UNIVERSITÉ DE LAUSANNE - FACULTÉ DE MÉDECINE

INSTITUT DE BACTÉRIOLOGIE ET D'HYGIÈNE

Directeur : Professeur P. Hauduroy

Etude du diagnostic différentiel entre les types humain et bovin du bacille tuberculeux

Utilisation dans la méthode biologique du campagnol roussâtre comme nouvel animal test

Thèse

présentée à la Faculté de Médecine de
l'Université de Lausanne pour l'obtention du grade de
docteur en médecine

par

JACQUES-DIDIER BIZE

Médecin diplômé de la Confédération Suisse

Originaire de Villarzel (Vaud)

PORRENTRUY

Imprimerie La Bonne Presse

1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546820_0047

UNIVERSITÉ DE LAUSANNE - FACULTÉ DE MÉDECINE

INSTITUT DE BACTÉRIOLOGIE ET D'HYGIÈNE

Directeur : Professeur P. Hauduroy

Etude du diagnostic différentiel entre les types humain et bovin du bacille tuberculeux

Utilisation dans la méthode biologique du campagnol roussâtre comme nouvel animal test

Thèse

présentée à la Faculté de Médecine de
l'Université de Lausanne pour l'obtention du grade de
docteur en médecine

par

JACQUES-DIDIER BIZE

Médecin diplômé de la Confédération Suisse

Originaire de Villarzel (Vaud)

PORRENTRUY

Imprimerie La Bonne Presse

1961

UNIVERSITÉ DE LAUSANNE

Faculté de Médecine

Le Conseil de la faculté de médecine de l'Université de Lausanne, après avoir pris connaissance des rapports favorables de MM. les professeurs

P. HAUDUROY ET J.-L. NICOD

et sans se prononcer sur les opinions du candidat, autorise l'impression de la thèse intitulée :

ÉTUDE DU DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL ENTRE LES TYPES HUMAIN ET BOVIN DU BACILLE TUBERCULEUX
UTILISATION DANS LA MÉTHODE BIOLOGIQUE DU CAMPAGNOL ROUSSATRE COMME NOUVEL ANIMAL TEST

présentée par

MONSIEUR JACQUES-DIDIER BIZE

pour l'obtention du grade de Docteur en médecine

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Lausanne, le 10 avril 1961.

Le Doyen :
PROFESSEUR G. WINCKLER.

EN HOMMAGE RESPECTUEUX ET RECONNAISSANT A LA MÉMOIRE DE MON CHER PÈRE QUI, DÉCÉDÉ PEU AVANT L'IMPRESSION DE CE TRAVAIL, FUT POUR MOI JUSQU'A SON DERNIER JOUR, LE SOUTIEN LE PLUS GÉNÉREUX, LE PLUS PRÉCIEUX CONSEIL, ET LE MEILLEUR AMI.

L'EXEMPLE DE SA PROBITÉ, DE SA BONTÉ ET DE SON COURAGE, SERA POUR MOI INOUBLIABLE.

A MA CHÈRE MAMAN.

A MA FIANCÉE.

A MON FRÈRE ET SA FAMILLE.

Qu'il nous soit permis ici de témoigner toute notre gratitude à l'égard de Monsieur le Professeur P. Hauduroy, directeur de l'Institut de Bactériologie et d'Hygiène, pour l'amabilité avec laquelle il a consenti à diriger notre thèse, pour les facilités qu'il nous a accordées à travailler dans ses laboratoires et pour tout le dévouement et la compétence qu'il a mis à suggérer, suivre, corriger nos expériences.

Nos remerciements vont aussi :

A Monsieur le Professeur J.-L. Nicod, directeur de l'Institut d'Anatomie pathologique, qui nous a autorisé à procéder à l'examen histologique de nos animaux dans ses salles de microscopie,

A Monsieur le Docteur W. Rosset, chef du Laboratoire d'analyse de l'Institut de Bactériologie et d'Hygiène, qui fut pour nous un très précieux conseil,

A Messieurs les chefs de laboratoires de l'Institut vétérinaire Galli Valério, lesquels nous ont aidé à trouver les souches tuberculeuses bovines indispensables à notre travail,

A Monsieur le Docteur Gardiol, chef à l'Institut d'Anatomie pathologique, aux connaissances précieuses duquel nous avons eu recours pour l'examen histologique de nos animaux,

A Madame Grobet, laborantine-chef à l'Institut de Bactériologie et d'Hygiène, pour sa dévouée collaboration,

De même qu'à tout le personnel de l'Institut de Bactériologie et d'Hygiène, qui de près ou de loin a contribué à l'élaboration de la présente thèse.

INTRODUCTION

Dans Acta Pathologica, Vol. 34, 1954, Andr. Jespersen publiait sous le titre : « Immunity to tuberculosis in red mice », les résultats d'études faites sur une variété de souris non encore utilisée jusque là dans les travaux expérimentaux relatifs au bacille tuberculeux.

Ce rongeur, connu en français sous le nom de Campagnol roussâtre, porte la désignation zoologique de Clethrionomys G. Glareolus Schreb. C'est un proche parent de la souris des champs (Microtus agrestis).

Nous relevions entre autres dans l'article de Jespersen, que le campagnol roussâtre, tout en étant plus facile à élever que la souris des champs, présente comme cette dernière, dans l'infestation expérimentale par le bacille tuberculeux, une sensibilité plus grande au type bovin qu'au type humain. [1]

L'auteur précisait qu'une dose bacillaire de 10^{-1} mg. prélevée dans une culture de type bovin et injectée en émulsion par voie intra-péritonéale, causait la mort du campagnol en environ 3 semaines, alors qu'une dose de 10^{-3} à 10^{-5} mg. tuait l'animal en 1 mois et demi à 2 mois et demi et qu'une dose de 10^{-6} à 10^{-8} mg. était létale pour le même campagnol en 3 à 4 mois.

Il comparaît cette sensibilité très grande du rongeur vis-à-vis du bacille tuberculeux de type bovin à sa résistance vis-à-vis du bacille de type humain, en donnant comme autres renseignements que des doses bacillaires de 10^{-7} à 10^{-3} mg., prélevées dans des cultures de type humain et injectées en émulsion par la même voie, ne déterminaient pas de lésions fatales chez le campagnol, et que des doses plus fortes, soit 10^{-3} à 10^{-1} mg. ne provoquaient la mort des animaux d'expérience que de façon irrégulière.

Par ailleurs, il ajoutait que les lésions déterminées par le bacille de type humain ne présentaient pas les mêmes caractéristiques microscopiques et n'étaient pas aussi étendues que celles dues au bacille de type bovin.

Nous nous sommes proposé de vérifier les affirmations de Jespersen, et avons créé, pour obtenir le matériel nécessaire à nos expériences, un élevage de campagnols roussâtres.

---

[1] Voir travaux de A. Q. Wells, 1938, et A. Jespersen, 1954.

Cette entreprise s'est révélée d'emblée difficile. Les campagnols roussâtres piégés dans notre pays ne s'adaptaient pas à la captivité. Ceux qui nous parvinrent du Danemark par les soins du Professeur J. Orskov, à qui nous témoignons ici notre gratitude, se sont acclimatés et ont résisté à leur nouvelle captivité. Ils provenaient de l'élevage réalisé par le Département zoologique du Statens Seruminstitut de Copenhague.

Toutefois, si la reproduction était satisfaisante, le développement jusqu'à maturité se faisait rare, une forte mortalité emportant les campagnols pendant leurs premières semaines d'existence.

Nous avons cependant pu obtenir un nombre suffisant d'animaux adultes et bien portants, pour accomplir les expériences nécessaires à l'élaboration du présent travail.

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE

I. GÉNÉRALITÉS SUR LES MYCOBACTÉRIES [1]

Les mycobactéries groupent un nombre considérable de bacilles, qui tous ont en commun la propriété de résister à la décoloration par l'alcool et les acides, dans la coloration selon la méthode de Ziehl-Neelsen. Cette propriété est habituellement désignée par le terme : acido-alcoolo-résistance (aar).

Les mycobactéries comprennent en particulier :

— Les bacilles de la lèpre humaine et de la lèpre murine (dont nous ne parlerons pas ici).
— Les bacilles tuberculeux des divers types : humain, bovin, aviaire, pisciaire et B. C. G.
— Les bacilles paratuberculeux, dont la variété est infinie.
— Les mycobactéries anormales.

II. MYCOBACTÉRIES PATHOGÈNES POUR L'HOMME

En dehors du bacille de Jansen (lèpre), ne sont pathogènes pour l'homme, sauf exceptions, que les bacilles tuberculeux des types humain et bovin. C'est donc de ces derniers que nous traiterons plus spécialement, et en particulier, comme dit dans l'introduction de notre travail, du problème de la différenciation de ces types.

III. LE BACILLE TUBERCULEUX

A) ÉTUDE D'ENSEMBLE

1. Généralités

Le bacille tuberculeux, ou bacille de Koch, est l'agent responsable des lésions spécifiques de la tuberculose, sous toutes ses formes cliniques et évolutives.

---

[1] Voir Bibliographie, chiffre 1.

Il est parfois facile à mettre en évidence, sous l'aspect de bâtonnets grêles, réunis en amas, dans les crachats des phtisiques, dans les lésions nodulaires ou cavitaires, dans les granulations miliaires, dans les pus des abcès spécifiques, dans les ganglions scrofuleux ; parfois difficile à dépister dans certains épanchements des séreuses, dans le lupus, dans les vieilles lésions calcifiées et fibreuses, dans le sang, dans le liquide céphalo-rachidien, dans l'urine. Il faut alors recourir à l'inoculation des produits pathologiques aux animaux de laboratoire sensibles, tels que le cobaye.

2. Morphologie générale

Dans les crachats, le bacille tuberculeux a la forme d'un bâtonnet grêle, immobile, mesurant (0,5) — 1,5 à 3,5 — (8,0) microns de long, et environ 0,3 micron de large.

Il se présente isolé ou par groupes de 2 ou 3. Parfois, petits amas irréguliers. La plupart des bacilles sont libres, les autres inclus dans des leucocytes. Il faut colorer les bacilles pour en apprécier mieux la forme. Ils apparaissent alors légèrement courbes, granuleux, et plus épais.

Le bacille humain des cultures sur milieux solides est moins long que celui des produits pathologiques et des voiles de cultures en bouillon. Le bacille bovin et le bacille aviaire sont plus courts que le bacille humain.

Granulations : sont révélées surtout par la méthode de surcoloration de Babès. Sont ovoïdes, séparées par des plages claires. Nombre : 1 à 15, réparties régulièrement dans le corps microbien ou les extrémités. Paraissent parfois libres à la coloration de Gram, dans les cultures vieilles (Nocard et Roux). Possèdent les caractères des lipides, sont métachromatiques, identifiables aux granulations gramophiles et iodophiles de Much.

Membrane : Darzine, Hollande et Cremieux ont signalé l'existence d'une membrane faiblement colorable ou incolore, doublée d'une couche de lipides condensés.

Appareil nucléaire : selon Nakanishi : corpuscule arrondi, qui occuperait le centre du bacille. Selon Fontès : sphérules reliés par de fins filaments. Selon Kirchenstein : corpuscules métachromatiques de nature nucléaire, en général au centre du bacille. Selon Petit : grains colorables par les colorants nucléaires, en particulier l'hématoxyline ferrique et la safranine, mais différents des vrais noyaux. Selon G. Romain : chromatine disséminée dans le cytoplasme.

Appareils mitochondrial et vacuome : inconnus.

Motilité : la motilité électrophorétique des bacilles humain et bovin varie selon les souches et l'âge des cultures ; elle atteint son maximum dans les cultures âgées de 3 semaines.

3. Formes atypiques

Les caractères morphologiques du bacille tuberculeux varient selon la composition des milieux et les conditions de culture.

Par exemple, dans les cultures artificielles vieilles, sur milieux solides, on constate souvent la présence de formes plus allongées, plus épaisses, parfois ramifiées et noueuses, avec des renflements terminaux en forme de massue (Metchnikoff, J. Klein, Fischer, Hueppe).

Selon Vaudremer, dans les cultures en bouillon de pomme de terre non glycériné, cultures en profondeur, on arrive parfois à des formes filamenteuses atypiques.

L'adjonction de terres rares à des cultures de bacilles humains aboutit à des éléments renflés, ramifiés, très granuleux, d'aspect actinomycosique. D'autres artifices de culture encore permettent d'obtenir des éléments semblables.

Toutefois, la présence de ces formes ramifiées dans les cultures de bacilles tuberculeux des types humain, bovin et aviaire normaux n'est pas encore démontrée. Cependant, selon Coppen-Johnes, on trouverait des formes actinophytes (J.-E. Magron) dans les crachats des phtisiques caverneux.

4. Reproduction

Dans l'état de vie parasitaire et dans les cultures en milieu artificiel, la reproduction se fait par simple division transversale des bâtonnets. Il n'y a pas de sporulation.

Pourtant, selon certains auteurs (M.C. Kahn, J. Torrey) il existerait un cycle vital au cours duquel on assisterait à un passage par des formes cocci pour certains bacilles, formes micrococci, qui se multiplieraient avant de redonner naissance à des formes en bâtonnets.

Selon J. Lominski encore, il y aurait un cycle de 96 heures, avec des passages par des formes granulaires (microgonidies, macrogonidies et corpuscules de régénération) différenciables.

Selon L. Karwacki pour terminer, les bacilles de Koch connus seraient un chaînon d'un cycle comprenant : forme streptothrix — bacille aar — bacille non aar — cocci — forme filtrable. Mais ce dernier cycle, très contestable, est renié par de nombreux auteurs, dont J. Orskov.

B) LES DIVERS TYPES DE BACILLES TUBERCULEUX

1. Bacille tuberculeux humain

Voir ci-dessous.

2. Bacille tuberculeux bovin

Nous ne discuterons pas ici les caractères particuliers, morphologiques, de culture et biologiques de ces deux types, car ils seront suffisamment développés plus loin lors de l'étude des problèmes de diagnostic différentiel.

Mais nous nous bornerons à signaler les quelques faits suivants qui nous paraissent dignes d'intérêt :

Chauveau 1868, Bollinger 1894, Klebs 1870, Crookshank 1891, Sydney-Martin 1895, Thomassen 1901, S. Arloing 1901, Nocard 1902, de Jongh 1902, Ravenel 1902, et d'autres, montrent que le bacille de l'homme phtisique (crachats, émulsions d'organes tuberculeux) est capable d'engendrer la tuberculose chez le bovidé.

Robert Koch, en 1901, au congrès de Londres, oblige à discuter ces résultats et suscite de nouvelles recherches. On constate alors que la plupart du temps, il est nécessaire d'inoculer des doses très grandes par voie intraveineuse ou intra-péritonéale, pour obtenir l'infection du bovidé. Ainsi, le pouvoir pathogène du bacille d'origine humaine (crachats) est en général faible pour le bœuf.

Mollers, 1911, Koch, Schütz, Kossel, Weber, Heuss, expliquent ces faits en montrant que les crachats tuberculeux ne contiennent pratiquement toujours que du bacille de type humain, alors que des produits tuberculeux d'autres organes que le poumon, capables d'engendrer chez les bovidés une généralisation grave d'emblée, contiendraient souvent du bacille de type bovin.

Toutefois, avec Esser, Wertenhœffer, J. Fibiger et Jensen, Damman et M. Mussmeier, Eber, Delépine, Halmiton, Young, Schottelins, la Commission Royale anglaise (1911), il faut admettre que les bacilles isolés de l'homme et présentant tous les caractères de culture et morphologiques du type humain, ont parfois pour le bovidé une virulence égale à celle du type bovin. S'agirait-il de souches modifiées, d'origine bovine plus ou moins proche ? S'agirait-il de types intermédiaires comme l'ont prétendu certains auteurs ? Cette dernière hypothèse paraît improbable, la plupart des souches isolées de l'homme présentant des caractères de culture et de virulence bien tranchés.

Notons encore que Eber, von Behring, Römer, Ruppel, Damman, Mussemeier auraient réussi la mutation du type humain en type bovin. La mutation se produirait par inoculation de l'homme au bœuf, puis de bœuf à bœuf, ou par passage intermédiaire chez la chèvre ou le cobaye. Cependant, Neufeld, Dold, Lindmann contestent ces faits, car l'infestation spontanée du bovidé par du bacille de type bovin paraît plus vraisemblable.

Il reste certain toutefois que le bacille de type bovin peut contaminer l'homme, et c'est ce qui nous intéresse ici. (Selon W. Park, 6 à 10 % des cas de tuberculose mortelle chez l'enfant de moins de 5 ans, seraient dus à du bacille de type et d'origine bovins.)

En conclusion, on peut déduire que :

a) le bacille de type humain peut contaminer le bœuf, mais il est moins virulent pour le bœuf que le bacille de type bovin ;

b) le bacille de type bovin peut contaminer l'homme mais il est moins virulent pour l'homme que le bacille de type humain ;

c) le bacille de type humain est moins virulent pour le bœuf que le bacille de type bovin n'est virulent pour l'homme.

3. Bacille tuberculeux aviaire

Les oiseaux sont sensibles à l'infection tuberculeuse, surtout les espèces domestiques et captives. Par adaptation (?), le bacille a acquis des caractères physiologiques et de culture particuliers, plus tranchés qu'ils ne le sont entre les types humain et bovin.

Ce sont Rivalta, Maffucci et Koch (1889-1890) qui démontrèrent ou admirent la spécificité du bacille aviaire.

J. Strauss et Gamaléia, 1891, obtinrent des cultures à partir de rate de poule sur les milieux suivants : sérum, gélose simple, gélose glycérinée et gélose sucrée.

Sur gélose, après une semaine, on obtient des colonies sous forme de petites taches blanches, arrondies, humides et luisantes comme des gouttelettes de cire ; puis les colonies se confondent en un enduit gras, d'abord continu, puis plissé et gris jaunâtre, qui reste mou au lieu de s'écailler comme la tuberculose humaine. L'odeur des cultures est moins forte et plus aigrelette que pour les bacilles humain et bovin. Température optimum : 40-43 degrés, ce qui n'est pas le cas pour les bacilles des mammifères. Le bacille aviaire est en outre plus tolérant, il pousse bien jusqu'à 28 degrés. Sa vitalité est plus grande ; il se conserve pendant 1 à 2 ans sur milieu artificiel.

Sa morphologie est absolument identique à celle du bacille de type humain. Mais par ailleurs, O. Bang a constaté que les cultures en bouillon glycériné passent par les mêmes phases que celles du type bovin : soit acide d'abord, puis neutre, et enfin fortement alcaline.

Qu'en est-il de la sensibilité des oiseaux aux bacilles des mammifères ?

Selon Gilbert, Cadiot, Roger, A.W. Stableforth et G. Martinaglia, Strauss et Gamaléia, Nocard, Maffucci, J. Cormont, Dor, Bang, Weber, Titze, Weidanz et W.H. Feldmann (1934), les psittacés semblent assez sensibles aux bacilles des mammifères ; les autres oiseaux sont réfractaires.

Selon certains auteurs encore, la mutation du bacille des mammifères en bacille aviaire serait possible ; selon d'autres, elle est exclue.

Quant à la sensibilité des mammifères au bacille aviaire, elle a été étudiée par un nombre extrêmement élevé d'auteurs, dont il serait fastidieux ici d'établir la liste. Nous nous contenterons donc de donner le résultat global des expériences et recherches faites à ce sujet, en affirmant que le bacille aviaire est peu virulent pour les mammifères, le porc excepté. Il n'y a pas de tuberculose généralisée, à moins d'inoculations intra-veineuses à doses massives.

4. Bacille tuberculeux pisciaire

On trouve chez les poissons, la carpe en particulier (selon Dubard, Bataillon, Terre), des bacilles aar qui ne sont pas des bacilles tuberculeux vrais (Weber, Tante). Certains de ces bacilles se trouvent dans la terre, dans la vase, etc., et ne diffèrent pas des paratuberculeux ordinaires. D'autres peuvent être pathogènes pour certains poissons, mais ne peuvent le devenir pour les animaux à sang chaud.

A la rigueur, on peut donc distinguer entre paratuberculeux ordinaires et tuberculeux pisciaires, mais cette distinction est loin d'être admise par tous les auteurs, car les bacilles aar pathogènes découverts chez certains poissons pourraient très bien n'être pas spécifiques des poissons.

5. Bacille acido-alcoolo-résistant des reptiles et batraciens

Notons le bacille de Friedman, isolé d'une tortue, pathogène pour la tortue, le lézard, la couleuvre, l'orvet, la grenouille, poussant bien de 22 à 37 degrés. Les animaux à sang chaud y sont réfractaires.

Remarques : Les essais de transformation des bacilles tuberculeux d'animaux à sang chaud en bacilles aar d'animaux à sang froid n'ont donné que

des résultats contradictoires et peu probants ; il semble donc en définitive qu'il n'y a aucune identité entre ces types bacillaires.

6. Bacille de Calmette et Guérin (B.C.G.)

Le B.C.G., étant donné l'importance qu'il prend actuellement, mériterait d'être traité dans un chapitre spécial. Mais pour ne pas surcharger notre travail, nous ne donnerons ici que les quelques renseignements qui nous paraissent nécessaires à la présente et brève étude des divers types de bacilles tuberculeux.

La souche B.C.G., dont on fait aujourd'hui un large emploi pour la vaccination antituberculeuse, est issue directement du 230^{me} réensemencement d'un bacille virulent d'origine bovine, sur pomme de terre imprégnée de bile de bœuf, glycérinée à 5 %. Ce milieu alcalin et riche en lipoïdes est le seul qui permit d'arriver au résultat cherché : modifier la constitution physico-chimique du bacille sans nuire à sa vitalité et à ses propriétés antigéniques.

En réensemençant le bacille tous les 15 jours, on avait constaté qu'il devenait de moins en moins tuberculigène. Après 4 ans, il n'était plus pathogène pour le bœuf, ni pour le cobaye, mais bien encore pour le lapin et le cheval.

Après 230 cultures successives faites en 13 ans, dans des conditions identiques, à 38 degrés, le bacille avait perdu toute aptitude à provoquer la formation de tubercules réinoculables. Il était devenu avirulent pour le cheval, le bœuf, le mouton, le chien, le lapin, le cobaye, le rat, la souris, la poule, le pigeon.

Par la suite, on entretint soigneusement la souche, en la cultivant sur pomme de terre plus bouillon glycériné, ou sur milieu synthétique de Sauton.

L'aspect des cultures de B.C.G. est le suivant :

— Sur pomme de terre plus bouillon de veau glycériné ordinaire : comme les cultures habituelles de bacilles tuberculeux, soit : masses cérébroïdes, granuleuses, blanc jaunâtre, ou grisâtres, légèrement humides et fragmentées.

— Sur milieu synthétique de Sauton : l'aspect est à peu près identique à celui des cultures de bacilles bovins sur bouillon glycériné ordinaire.

Dans les cultures de B.C.G., les bacilles eux-mêmes ont gardé leur caractère originel d'acido-résistance et de colorabilité par le procédé de Ziehl ; ils sont seulement plus longs, plus grêles et plus granuleux que les bacilles bovins cultivés sur les mêmes milieux.

E. Darzine a mis au point une méthode d'imprégnation à l'argent, qui dans certaines conditions permet de distinguer mieux le B.C.G. des bacilles humain et bovin.

IV. LES BACILLES PARATUBERCULEUX [1]

Comme nous l'avons déjà dit au début de cette étude préliminaire, les bacilles paratuberculeux font aussi partie des mycobactéries. Leur découverte est due entre autres à Lustgarten, Rabinowitch, Pétri, 1884-1898.

---

[1] Voir Bibliographie, chiffre 4.

Ces bacilles sont extrêmement répandus et dispersés ; on en trouve en particulier dans le beurre, dans la terre, dans la vase, dans les végétaux, dans l'eau, dans le smegma...

Morphologiquement, ils sont tout à fait semblables au bacille de Koch ; ils présentent la même acido-alcoolo-résistance dans la coloration selon la méthode de Ziehl, et dans les cultures fraîches, les mêmes formes bleues (= bacilles jeunes non encore aar). Voir aussi : Coloration d'Alexander, modifiée par Hauduroy et M^me^ Tanner (C. R. Soc. biol. 1948, 142. 11 déc.) relative à un éventuel cycle de colorabilité des mycobactéries, avec des formes bleues (jeunes), jaunes (intermédiaires ou bactéries banales) et rouges (vieilles).

La culture des bacilles paratuberculeux est en principe facile ; les germes poussent bien sur milieux ordinaires ou sur milieux spéciaux, et poussent très rapidement par rapport aux bacilles tuberculeux vrais. Toutefois, cette dernière propriété des paratuberculeux n'étant pas la règle, et leur présence dans les produits pathologiques ou non, examinés, apparaissant comme très banale, il convient de souligner les difficultés que peut rencontrer, aujourd'hui encore, le spécialiste, lorsqu'il s'agit de différencier, dans les prélèvements suspects, de ces germes aar banaux, les éventuels bacilles tuberculeux vrais qui pourraient s'y trouver mêlés (cas de l'urine, par exemple, supposée contenir du BK, où la seule solution sûre est le plus souvent l'inoculation au cobaye).

Quant aux propriétés biochimiques des paratuberculeux, elles ne sont encore que fort mal connues. Leurs propriétés biologiques, elles, ont été mieux étudiées ; et pour les résumer brièvement, on peut en dire ceci :

— Pouvoir pathogène pour l'homme : nul.

— Pouvoir pathogène sur les animaux de laboratoire courants : pas de résultat probant dans l'inoculation en émulsion aqueuse.

— Avec d'autres excipients, ou par certains artifices, mélange des bacilles avec de la poudre de licopodes ou des corps gras, etc., on peut constater l'apparition d'un certain pouvoir pathogène à l'égard des animaux de laboratoire. Mais les lésions obtenues ne ressemblent jamais à la tuberculose.

Remarquons encore que certaines souches de paratuberculeux produisent une tuberculine ou paratuberculine analogue à la tuberculine des bacilles tuberculeux vrais, donc capable d'engendrer les mêmes réactions chez l'homme ou l'animal allergiques.

Pour terminer, notons enfin qu'il existe plusieurs classifications partielles des paratuberculeux, mais qu'aucune pour le moment n'est valable. D'ailleurs, les rapports exacts des paratuberculeux avec les tuberculeux vrais nous échappent encore totalement.

V. LES MYCOBACTÉRIES ANORMALES [1]

La notion de mycobactéries anormales est relativement récente et encore peu claire. Elle est née de la constatation que certaines bactéries aar, sans tuberculiser le cobaye, étaient capables de produire chez l'homme en particulier, des lésions bien définies.

---

1 Voir Bibliographie, chiffre 3.

Ainsi les propriétés biologiques de ces bactéries sont en quelque sorte intermédiaires entre celles des bacilles tuberculeux vrais et celles des bacilles paratuberculeux.

Les études faites sur les animaux de laboratoire, de même que celles faites au moyen de tests cyto-chimiques, n'ont pas résolu le problème des mycobactéries anormales.

Parmi ces dernières, il en est tout de même qui ont un certain pouvoir pathogène pour le cobaye, mais de toute façon, elles ne le tuent jamais, ne produisant que des lésions locales ou réversibles.

Citons pour mémoire, les principales souches de mycobactéries anormales actuellement connues ; ce sont :

— Bac. aar. de Cuttino Mc Cabe (Nocardia intra-cell.), découvert chez une fillette en 1949, souffrant d'une affection afébrile, caractérisée par des ganglions abdominaux et inguinaux (histol. : nécrose et cellules géantes multinuclées). Chez le cobaye : granulomes non évolutifs. Ne pousse que sur milieux spéciaux.

— Mycobac. tuberculosis, var. cutis (Hauduroy et al.), provoquant des ulcérations de la peau chez l'adulte et l'enfant, dans les régions rurales de l'Australie. Cobaye insensible. Ne pousse que sur milieux spéciaux. Appelé aussi : Mycobac. ulcerans.

— Mycobac. balnei, 1951-1954, découvert chez des malades atteints de lésions ulcéreuses tuberculoïdes, après éraflures dans les piscines. La souris paraît être l'animal le plus sensible, mais le bacille même à dose très forte ne la tue qu'irrégulièrement. Pousse sur milieux ordinaires et spéciaux. (Norden et Linell.)

— Mycobac. abcessus (Moor et Frerick, 1953), découvert chez un malade de 62 ans, qui s'était blessé jeune au genou et qui dès lors n'avait cessé d'avoir des douleurs et de l'enflure à cette articulation. Lésions guérissables chez le cobaye. Milieux spéciaux et ordinaires.

— Mycobac. Kansasii (Pollack et Buhler) provoquant des lésions caséeuses chez l'homme, aux poumons, à la rate, dans les ganglions, aboutissant à la cachexie et à la mort. Ne tuerait jamais le cobaye. Milieux spéciaux.

— Mycobac. Glasgowii ou My. sp. souche Glasgow (Lominski, Harper-Gibson). Serait pathogène chez l'homme ? Tue la souris. Cobaye insensible. Milieux spéciaux et ordinaires.

— Mycobac. Cou... de G. Schuster : lésions fibro-caséeuses du poumon chez un homme atteint d'un carcinome épidermoïde de ce même poumon. Cobaye insensible. Pousse bien sur milieu de Dubos.

— Mycobac. Se... de G. Schuster également, isolé aussi de lésions pulmonaires humaines. Mêmes caractéristiques que le précédent.

— Mycobac. X, (Vischer, Daniels et Pappenheimer) provenant d'une myocardite et d'une artérite pulmonaire. Cobaye insensible.

VI. DIFFÉRENCIATION DES BACILLES ACIDO-ALCOOLO-RÉSISTANTS

Dans le diagnostic des bacilles aar, le premier problème pratique qui se pose est celui de la différenciation entre bacilles paratuberculeux et bacilles tuberculeux vrais.

Si nous nous référons à ce qui a été dit plus haut des propriétés biologiques de ces deux catégories de bacilles, nous pouvons dire qu'il s'agit en fait du diagnostic différentiel entre bacilles non virulents (bacilles dont aucun pouvoir pathogène n'est connu de façon précise, que ce soit sur l'homme ou sur les animaux de laboratoire) et bacilles virulents (bacilles dont le pouvoir pathogène est bien connu, médicalement ou expérimentalement).

Le passage que nous faisons ici de paratuberculeux à non virulents n'est évidemment pas valable théoriquement ; il n'est que pratique. Car en effet, nous n'avons pas le droit de conclure à la totale absence de pouvoir pathogène chez les paratuberculeux, tant que nous n'aurons pas exploré de façon plus systématique leurs effets sur toute la gamme des êtres animés susceptibles d'être infestés.

Nous ouvrons une parenthèse ici pour signaler l'existence d'un bacille aar considéré par beaucoup d'auteurs comme paratuberculeux, alors même qu'il possède un pouvoir pathogène bien défini. C'est le bacille de Johne, découvert en 1895 par Johne et Frotingham, cultivé en 1910 par Twort et Ingram, agent de l'entérite hypertrophiante contagieuse des bovidés. Ce bacille ne pousse bien que sur milieux additionnés de tuberculeux ou paratuberculeux morts.

Le bacille de Johne est susceptible de provoquer chez le bovidé une infection transmissible en série ; le cobaye et le rat y sont réfractaires, le lapin sensible.

Il fait donc exception déjà parmi les paratuberculeux.

Avant de passer à la description des méthodes de différenciation concernant le problème posé plus haut, nous aimerions, pour souligner une fois encore la relativité des connaissances actuelles sur la virulence et le pouvoir pathogène des bactéries en général, parler encore de deux questions à l'ordre du jour : celle des variations naturelles de virulence et celle des mélanges de germes.

La première nous conduit à admettre, si l'on considère les expériences positives faites pour obtenir l'atténuation du pouvoir pathogène de certains bacilles (B.C.G., par exemple) que la virulence est une propriété instable, susceptible de modifications naturelles ou artificielles, induites par les changements de milieux et d'hôtes, ou par les variations des conditions d'existence, de développement, de reproduction et d'action des germes.

La seconde met en garde contre le risque qu'il y a, à considérer de façon quantitative la virulence d'un germe, lorsqu'on ne connaît pas la pureté de la souche à laquelle il appartient.

A) Diagnostic différentiel entre paratuberculeux et tuberculeux

Les bacilles paratuberculeux peuvent être reconnus et isolés des tuberculeux vrais parce qu'ils sont :

— plus rapidement et plus facilement cultivables sur milieux artificiels ordinaires,
— souvent groupés en colonies pigmentées,
— incapables de reproduire l'infection tuberculeuse inoculable en série,
— mauvais antigènes vis-à-vis des sensibilisatrices tuberculeuses,

— producteurs de sécrétions dépourvues de toxicité en général et pour les animaux tuberculeux,

— pas ou peu agglutinables par les sérums homologues et pas du tout par les sérums d'animaux tuberculeux,

— à petites doses, le plus souvent inoffensifs pour les animaux d'expérience (parfois et avec certains artifices, forment des tubercules, mais comme le feraient aussi des corps étrangers quelconques ; ces tubercules n'ont aucune tendance à produire des lésions extensives ; ils ne sont jamais réinoculables en série à d'autres animaux). Exception déjà signalée : le bacille de l'entérite hypertrophiante des bovidés (voir plus haut).

— en conséquence incapables de protéger le sujet contre l'infection tuberculeuse.

Par ailleurs, les paratuberculeux sont moins résistants à la décoloration par les acides, mais il s'agit d'une nuance, que Dahms a toutefois pu mettre à profit dans sa technique permettant de reconnaître les paratuberculeux des voies génitales et de les isoler des tuberculeux vrais.

Pour terminer, signalons encore quelques méthodes de différenciation, sans portée générale :

— Celle d'Anna V. Spindler-Engelsen, montrant que certains paratuberculeux (ceux du smegma, de Mœller, et quelques autres) peuvent être dissous en une demi-heure dans une solution à 5 % d'antiformine, alors que le BK ne l'est pas, même en 4 jours dans une solution à 50 %.

— Celle de Mœller, basée sur la lenteur de végétation du bacille tuberculeux et ses exigences en température : le produit infecté est mêlé à du bouillon ordinaire ; on place le mélange à 30 degrés ; si les bacilles se développent de façon continue dans ces conditions, on peut être sûr qu'il ne s'agit pas de bacilles tuberculeux vrais.

— Celle de Piatkowski, qui se sert de la méthode de Spengler, en mettant à profit la sensibilité relativement faible des bacilles aar à la formaldéhyde...

Ici pourraient être citées aussi les méthodes relatives à la mise en évidence de la non virulence des germes aar, tests cyto-chimiques qui, nous l'avons dit plus haut, permettent également de différencier dans une certaine mesure les bacilles paratuberculeux des tuberculeux vrais. Mais nous ne nous étendrons pas davantage, nous bornant à signaler :

— le test de Dubos et Middlebrook (1948) utilisant le rouge neutre, valable pour les souches courantes et jeunes,

— le test de Desbordes, analogue au test de Dubos, mais utilisant le bleu de Nil au lieu de rouge neutre,

— la réaction de Bloch, basée sur la décoloration du bleu de méthylène par les seules souches saprophytes et peu pathogènes ou vieilles,

— le test de Wilson, Kalisch et Fish, mesurant le potentiel d'oxydo-réduction qui est différent si la souche est saprophyte ou pathogène (les souches avirulentes possèdent et libèrent une déshydrogénase qui réduit, décolore les colorants-indicateurs ; les souches pathogènes posséderaient aussi ce ferment, mais ne le libéreraient pas).

Pour terminer, signalons encore la propriété des bacilles virulents de former des torsades (phénomènes de polarisation ou de sécrétion de surface, hydrophobe), cord factor de Bloch, sécrétion qui, formant cuirasse, empêcherait la libération chez les souches pathogènes des enzymes intervenant dans les méthodes décrites ci-dessus.

Après l'énumération des moyens de coloration, de culture et des tests cyto-chimiques, reste le moyen le plus pratique et le plus sûr comme nous l'avons déjà dit : l'inoculation expérimentale aux animaux de laboratoire, méthode qui se passe ici de commentaires.

B) Diagnostic différentiel entre tuberculeux humain et bovin

1. Méthodes relatives à la morphologie et aux cultures

a) Cultures sur milieux gélatinisés glycérinés (Th. Smith, Ravenel).

Les souches bovines donnent des bacilles épais et courts (inf. à 1 mu) rectilignes.

Les souches humaines donnent des bacilles plus longs (env. 3 mu) plus minces, souvent courbes, plus fragmentés.

b) Bouillon glycériné.

Les bacilles bovins diminuent légèrement l'acidité du bouillon presque d'emblée, puis l'augmentent très lentement.

Les bacilles humains augmentent l'acidité jusque vers le 15^{me} jour ou le 18^{me}, puis la diminuent.

Cette différence provient de la façon du bacille d'utiliser la glycérine. Mais selon M. Grund et J. Wankel, il existerait des types intermédiaires et des types inversés.

c) Milieu différentiel de Gosio.

Il s'agit d'un bouillon glycériné + Na Cl + Arbutine (= glucoside soluble dans l'eau).

Le bacille tuberculeux, par une diastase, décompose l'arbutine en glucose + hydroquinone. L'hydroquinone, décelée par des réactifs ferriques s'oxyde au contact de l'air et communique une coloration brune au solvant. Avec le bacille bovin, la coloration brune apparaît très précocement et tout le bouillon est noir après 1 mois.

Avec le bacille humain, il faut attendre plusieurs semaines avant que la coloration brune apparaisse, et il faut au moins 3 mois pour que tout le bouillon soit coloré.

d) Milieu différentiel de Kossel, Weber, Heuss, Oelecker.

Il s'agit d'un bouillon glycériné à 4 %.

Le bacille bovin pousse péniblement en pellicule ou voile extrêmement mince.

Le bacille humain pousse avec vigueur, couvre la surface liquide en 2-3 semaines, grimpe les parois du vase et provoque la formation d'une membrane flottante épaisse et ridée.

Mais ces différences ne valent que pour les souches récemment isolées sur milieux solides et elles ne sont pas constantes.

e) Milieux d'isolement établis par W. Park, à la suite des travaux de Mœller et Beck.

Pour le bacille bovin : milieu de Dorset (œuf non glycériné, additionné de 10 % d'eau en volume, puis coagulé).

Les bacilles bovins y forment de petites colonies molles, humides, gluantes, qu'il faut se hâter d'étaler pour leur donner plus de vigueur.

On peut reporter ensuite ces colonies sur pomme de terre glycérinée, elles s'y développent bien.

Pour le bacille humain : milieu de Lubenan (œuf additionné de 30 % de bouillon glycériné à 5 %, puis coagulé).

Le bacille humain s'y développe bien d'emblée, le bacille bovin s'y développe très mal.

f) Selon les travaux de la Commission Royale anglaise, qui a imposé la distinction entre bacilles eugoniques (= bacilles qui poussent bien sur milieux ordinaires glycérinés) et bacilles dysgoniques (= bacilles qui poussent mal sur les mêmes milieux) et d'après Stanley Griffith, on est en présence de souches humaines lorsque :

1) les bacilles sont eugoniques et produisent du pigment (sur sérum de bœuf coagulé),

2) les bacilles sont dysgoniques, avirulents pour le lapin, mais virulents pour le cobaye, et produisent du pigment.

Au contraire, on se trouve en présence de souches bovines lorsque :

1) les bacilles sont dysgoniques, pathogènes pour le lapin, et ne produisent pas de pigment,

2) les bacilles sont faiblement virulents pour le lapin, mais aussi pour le cobaye ; ils ne produisent pas de pigment (= souches atténuées).

g) Selon K. A. Jensen.

La différenciation peut se faire sur milieu à l'œuf de Löwenstein :

— Les bacilles humains forment des colonies sèches, irrégulières, plissées.

— Les bacilles bovins forment des colonies petites, rondes, humides, presque transparentes, s'émulsionnant facilement.

h) Selon Kirchner :

Le milieu de différenciation le plus favorable est le milieu au jaune d'œuf et au sérum de veau.

— Les bacilles humains y forment des colonies sèches.

— Les bacilles bovins y forment des colonies humides, glaireuses, brillantes.

i) Les résultats sont les mêmes que ci-dessus avec le milieu à l'œuf et à la cire d'abeille de Petragnani.

j) Le bouillon à l'œuf de Besredka permet aussi la différenciation :

— Les bacilles humains forment au fond du vase de petites écailles plus ou moins sèches et non adhérentes.

— Les bacilles bovins forment, au fond du vase aussi, des filaments d'apparence muco-membraneuse.

k) Calmette et Guérin utilisent pour le diagnostic des types humain et bovin des milieux biliés :

Ex. : pomme de terre cuite dans de la bile de bœuf, glycérinée à 4 % :

— Les bacilles bovins y poussent bien,

— les bacilles humains y poussent très mal.

l) On peut citer encore la différenciation sur le milieu de Wagener et Mitscherlich, et les méthodes de diagnostic relatives à la chimie du bacille

(par exemple : production d'acide nicotinique). Mais nous ne nous étendrons pas davantage sur le détail de ces méthodes.

2. Méthodes relatives à l'inoculation expérimentale

Le meilleur procédé de diagnostic différentiel entre bacilles de type humain et de type bovin est aujourd'hui encore, l'inoculation des cultures de première et de deuxième générations au lapin.

Les premières constatations relatives à la différence de sensibilité du lapin aux deux types bacillaires remontent à 1868. Elles ont été faites par Villemein. Plus tard, Orth, Baumgarten, puis Théobald Smith, en 1896 et 1898, Vagedes en 1898, firent les mêmes constatations. Kossel, Weber et Heuss, d'autre part, montrèrent qu'il existe un parallélisme presque parfait dans ces différences de virulence pour le lapin et pour le veau (surtout à faible dose par voie intra-veineuse).

a) Procédé de Tadao Toda : inoculation au lapin par voie dermique.

— Bacille bovin : l'inoculation par voie dermique d'une dose de 10^{-1} mg. de bacilles bovins au lapin, provoque après 8-17 jours, la formation d'un nodule local ; puis l'infection s'étend aux poumons, sous la forme de nodules disséminés plus ou moins nombreux et confluents, après que les ganglions régionaux se soient hypertrophiés et caséifiés.

— Bacille humain : presque jamais de réaction généralisée pour des doses inférieures à 10^{-4} mg. Les ganglions lymphatiques et les viscères restent indemnes.

b) Procédé de A. Boquet et de R. Laporte : inoculation au lapin par voie pleurale.

— Bacille bovin : une dose de 10^{-2} mg. provoque en 2 mois une tuberculose généralisée, massive, des poumons, du foie, de la rate et des reins.

— Bacille humain : la même dose provoque des lésions pleurales unilatérales et péricardiques. Parfois quelques nodules disséminés dans les poumons, mais toujours, le foie, la rate et les reins restent intacts.

c) Procédé de W. Park et Ch. Krumwiede : inoculation au lapin par voie intra-veineuse.

— Bacille bovin : on inocule dans la veine marginale de l'oreille du lapin, à des sujets pesant de 1500 à 2000 g., des bacilles de première ou de deuxième générations, cultivés sur milieux à l'œuf, glycérinés ou non, ou sur pomme de terre glycérinée, les cultures étant âgées de 3 à 4 semaines.

Avec une dose de 10^{-2} mg., on obtient une tuberculose généralisée et la mort de l'animal en 30-60 jours.

Avec une dose de 1 mg., on obtient une intoxication grave et la mort rapide de l'animal.

— Bacille humain : on procède de même et on sacrifie les lapins après 60 jours. A l'autopsie, on trouve alors des lésions disséminées des poumons et des reins, mais peu progressives, ou éventuellement pas de lésions.

d) Procédé de F. Schick et F. Krusins : inoculation dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. (Dose 10^{-6} mg., dans une sol. physiologique.)

— Bacille bovin : destruction rapide de l'œil et généralisation de la tuberculose.

— Bacille humain : tuberculose atténuée, non progressive ou curable de la cornée et de l'iris.

e) Procédé de Trommsdorff et W. Binder : ici, on utilise non plus le lapin, mais la souris blanche.

Dose d'inoculation : 1 mg., par voie intra-veineuse (veine latérale de la queue).

— Bacille bovin : la souris est tuée en 27 à 57 jours.

— Bacille humain : la souris est tuée en 130 à 188 jours, avec des lésions très discrètes.

f) Selon une expérience de Aoki, sur le rat, cet animal serait au contraire des autres plus sensible au bacille tuberculeux de type humain.

En effet, dans cette expérience, sur 35 rats inoculés avec du bacille bovin, 9 seulement ont déclaré une tuberculose ; alors que parmi les 46 animaux infestés par du bacille humain, 42 au moins ont été nettement tuberculisés.

g) Procédé de Fraser : inoculation dans les articulations des pattes du lapin (membrane synoviale).

— Bacille bovin : après 10 jours, douleurs vives (repli des pattes), après 3-4 semaines, amaigrissement considérable, puis apparition de caséum dans les cavités articulaires, avec érosions des cartilages, foyers tuberculeux dans les os, et enfin atteinte des viscères.

— Bacille humain : épaississement des membranes synoviales, sécrétions liquides dans les séreuses articulaires, puis après 3-4 mois, tuberculose chronique articulaire, sans dissémination, sans atteinte de l'organisme.

h) Selon une expérience de E. Tomarkin et de S. Peschie, l'étalement de cultures ou de produits pathologiques sur la peau fraîchement rasée ou épilée du cobaye, serait également un moyen de diagnostic différentiel entre les 2 types bacillaires.

— Bacille bovin : la tuberculisation de l'animal serait constante et l'évolution de la maladie rapide.

— Bacille humain : la tuberculisation serait lente et inconstante.

i) Procédé de Calmette et Guérin : introduction dans la glande mammaire d'une chèvre en lactation, de 1-2 mg. de bacilles de culture, en émulsion, au moyen d'un tube trayeur et d'une seringue stérilisée.

— Bacille bovin : infection locale, puis généralisation par les trajets lymphatiques et mort de l'animal en 4-5 mois.

— Bacille humain : infection locale qui disparaît en quelques mois, puis réapparaît à chaque gravidité sans jamais se généraliser.

j) Epreuve de la virulence pour le bœuf, selon Kossel, Weber et Heuss.

On inocule sous la peau du bœuf, en arrière de l'épaule, 50 mg. de bac. à l'état frais, émulsionnés dans 5 cc. d'eau physiologique.

— Bacille bovin : tuberculose généralisée, mort en quelques mois.

— Bacille humain : abcès local plus ou moins volumineux, jamais de généralisation.

Il y aurait encore beaucoup d'autres méthodes, mais nous pensons avoir retenu les plus intéressantes dans l'énumération ci-dessus.

Le hamster, par exemple, selon les travaux de H. J. Corper, M. L. Cohn et Giroux, pourrait être utilisé comme animal-test dans le diagnostic des types humain et bovin du bacille tuberculeux ; mais ce fait est contesté par les expériences de Hauduroy et Rosset. [1]

---

[1] Voir Bibliographie, chiffre 5.

D'autres animaux encore, selon divers auteurs, seraient susceptibles d'être employés pour ce diagnostic, mais ce sont des animaux coûteux ou encombrants, et les méthodes décrites à leur sujet n'ont aucun intérêt pratique.

Nous tiendrons compte cependant du résultat des expériences faites à ce propos, en résumant ci-dessous l'ensemble des conclusions relatives au diagnostic du type bacillaire par l'infestation expérimentale.

Selon Jatta, Cosco, Schütz et Koch, d'une part, d'autre part au vu de ce qui précède :

— la poule est réfractaire aux deux tuberculoses,

— le chien est très résistant aux deux tuberculoses,

— le cobaye et le hamster sont également réceptifs à la tuberculose humaine et à la tuberculose bovine,

— la souris blanche, le lapin, le chat, le porc, l'agneau, la chèvre, le bœuf, sont plus sensibles au bacille tuberculeux bovin qu'au bacille tuberculeux humain,

— le rat serait plus sensible au bacille tuberculeux humain.

3. Avantages de la méthode biologique

Etant donné la parfaite similitude qui existe entre la morphologie des types humain et bovin du bacille tuberculeux, et vu la très grande homologie de leurs propriétés biochimiques et de leurs caractères de culture, il est hors de doute que le meilleur moyen de diagnostic différentiel entre ces types est la méthode biologique, soit l'infestation expérimentale.

Cette méthode, pouvant s'appliquer à des animaux de laboratoire relativement courants, est la plus simple, la plus sûre et la plus logique. Elle donne le plus souvent des résultats nettement tranchés, et se dispense de tout artifice de laboratoire éventuellement susceptible de fausser les expériences.

4. Réserves

Cependant, comme l'ont déjà signalé W. Park, L. Rabinowitch et O. Malm, la méthode biologique souffre aussi de quelques inconvénients. En effet, elle ne révèle pas l'existence des mélanges de germes, qui sont relativement fréquents, ni ne résolvent les anomalies de virulence des souches atypiques (ex. : souche de Schröder et Mietzsch, isolée au Sanatorium de Schömber des crachats d'une femme tuberculeuse de 29 ans, dont les bacilles étaient très virulents pour le lapin (= type bovin) mais se révèlent non pathogènes pour le bœuf (= type humain).

5. Conclusion

En pratique en définitive, il faut, avant d'affirmer l'origine humaine ou bovine d'un bacille :

1) Utiliser des cultures pures, obtenues en principe à partir de colonies isolées (ou même, si l'on veut aller plus loin, à partir de germes isolés avec le microséparateur de germes de Hauduroy).

2) Infester des lapins de 2 kg. par inoculation intra-veineuse (méthode de choix parmi les moyens biologiques).

3) Inoculer des poules, éventuellement (pour éliminer l'origine aviaire — Voie intra-veineuse — Dose 1 mg. et 0,01 mg.).

4) En cas de doute, recourir à l'infestation expérimentale d'un veau (voie intra-veineuse — Dose 1 à 5 mg.).

5) Comparer les résultats obtenus par la méthode biologique avec ceux donnés par les caractères de culture sur milieux de Löwenstein ou autre milieu à l'œuf.

6. Suggestion de Jespersen

Comme nous le montrons dans la conclusion qui précède, après énumération d'un certain nombre de méthodes biologiques, celle de ces dernières qui se révèle la plus avantageuse et la meilleure pour la différenciation des types humain et bovin du bacille tuberculeux, est certainement l'inoculation par voie intra-veineuse au lapin. Mais, comme animal de laboratoire, le lapin est encore relativement cher et peu commode à élever en grand. Il serait donc agréable de trouver comme animal-test, un rongeur plus petit et moins coûteux, qui soit en même temps aussi différemment réceptif aux deux types bacillaires que le lapin.

Jusqu'aux publications de Jespersen qui ont été le primum movens du présent travail (voir Introduction), cet animal n'était pas trouvé. Aujourd'hui, il l'est grâce à la perspicacité de l'auteur danois, qui tout en s'occupant d'autres problèmes bactériologiques, a su remarquer la très nette différence de sensibilité du campagnol roussâtre aux deux types de bacilles tuberculeux.

VII. LE CAMPAGNOL ROUSSATRE

A) Zoologie générale [1]

Le campagnol roussâtre, scientifiquement Clethrionomys G. Glareolus Schreb. ou Evotomys Glareolus Schreber, en allemand Waldwühlmaus ou Rötelmaus, en anglais Redbacked vole ou Red mouse, fait partie de l'ordre des rongeurs, simplicidentata, famille des muridés.

Cet animal est répandu en Europe des Pyrénées et de l'Italie du sud, à l'Ecosse et à la Scandinavie centrale, de la Grande-Bretagne à la Sibérie.

Sa longueur totale est en moyenne de 14 cm. dont 5 pour la queue. Son aspect est plus proche des rats que des autres campagnols. Il ressemble cependant beaucoup à Microtus agrestis, la souris des champs, sa proche parente.

Ses oreilles sont bien développées, ses yeux grands. Son dos est brun rouge assez foncé, ses flancs gris roussâtres, le ventre est blanc grisâtre, la queue bicolore.

On a fait de nombreuses sous-espèces, entre autres : la forme Nageri des Alpes, campagnol de grande taille, d'un roux foncé sur le dos, avec pelage très fourré, grisâtre dessous.

Miller reconnaît quelques espèces voisines : Evotomys Skomerensis Barett-Hamilton, campagnol de l'île Skomer (Galles) ; Evotomys Cesarius Miller, répandu à Jersey ; Evotomys Rutilus Pallas, vivant en Sibérie et au nord

---

[1] Voir Bibliographie, chiffre 2.

de la Scandinavie ; Evotomys Rufocanus Sundevall, rongeur de l'Europe du nord.

Le campagnol roussâtre est le campagnol des bois qu'il habite jusqu'à leur limite supérieure, mais on le trouve aussi dans les champs, les prés, les jardins, quoique plus rarement. Exceptionnellement, on le trouve aussi dans les marais.

Le campagnol roussâtre aime bien les taillis, les buissons, la forêt. Il est vif, court avec rapidité et adresse, sait grimper le long des troncs. On peut le voir de jour, mais c'est surtout peu avant la tombée de la nuit qu'on l'entend courir dans les feuilles mortes, en compagnie du mulot.

Il y a des périodes où ces animaux sont très abondants. Ils le furent en particulier au printemps et en été 1943, dans tout le Jura, du canton de Vaud à Bâle. En septembre, ils avaient presque complètement disparu.

Au printemps et en été 1949, ils pullulaient dans les Ardennes. On pouvait alors, sans exagérer, estimer leur densité à 1 animal à l'are, chiffre inférieur à la réalité si l'on tient compte du fait que tous les campagnols ne sont pas actifs en même temps.

Les pullulations semblent succéder aux fortes fainées.

Le campagnol roussâtre se nourrit de semences, racines, fruits, particulièrement, selon F. Pitt, fruits de l'églantier, glands. Il est moins herbivore que les autres campagnols, mangeant aussi des vers, insectes et couvées d'oiseaux.

Il fait des provisions soit dans son terrier, soit dans des trous, sous des pierres et des racines, ou dans ceux qu'il creuse à cet effet et recouvre ensuite soigneusement de terre. F. Pitt, qui en a eu en captivité, pense que c'est surtout un besoin d'enterrer ce qu'il ne peut pas manger tout de suite, car généralement, il oublie ses provisions.

Les campagnols luttent souvent entre eux pour leur nourriture ; debout, ils se frappent avec leurs pattes de devant.

Le campagnol roussâtre creuse d'assez longues galeries sous terre. C'est là-dedans, ou dans quelque trou d'une souche, parfois sur le sol, dans des herbes et des racines, qu'il fait son nid en boule ; et 3-4 fois l'an, d'avril à août, naissent 4-8 petits qui se cramponnent aux mamelles lorsque la mère quitte brusquement le nid.

B) Adaptation à la captivité et élevage

Le campagnol roussâtre est difficile à adapter à la captivité. Comme nous l'avons déjà signalé au début du présent ouvrage, ceux que nous avons piégés dans la campagne vaudoise ne se sont pas reproduits et n'ont pas survécu dans leurs cages. Il nous a été nécessaire, pour créer un élevage en temps voulu, de faire venir du Danemark des animaux déjà adaptés à la captivité, soit des campagnols nés et élevés au Département zoologique du Statens Seruminstitut de Copenhague.

Cinq mâles et 5 femelles nous parvinrent ainsi par avion SK 843, via Genève, le 22 février 1956.

Ces animaux vécurent et se reproduisirent mais une forte mortalité emportait encore un grand nombre de petits bien avant maturité.

En principe et selon les expériences concluantes faites à Copenhague, les campagnols roussâtres peuvent être traités en captivité comme les souris blanches.

Il faut laisser les campagnols en paix lorsqu'ils sont petits. A l'âge de 3 semaines, la mère n'est plus nécessaire. A l'âge de 2 mois, les campagnols peuvent commencer la vie familiale.

Les campagnols en expérience avec le bacille tuberculeux doivent être en principe isolés ; il leur suffit d'avoir pour nourriture de l'avoine et du pain imbibé d'eau.

Quant au régime alimentaire des campagnols en élevage, il peut être résumé ainsi : tous les jours, de l'avoine, des légumes (carottes, laitues, épinards, pissenlits ou autres), des pommes ; tous les 2 jours : du pain imbibé d'eau ; les autres jours, une boisson consistant en lait plus eau, moitié-moitié.

RECHERCHES ORIGINALES

1. Schéma

a) Détermination expérimentale de la sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain.

b) Détermination expérimentale de la sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin.

c) Discussion des résultats obtenus sous a) et b), comparaison de la sensibilité du campagnol roussâtre aux deux types bacillaires.

2. Mode d'investigation

Pour apprécier la sensibilité du rongeur aux divers types bacillaires, nous nous sommes bornés dans nos expériences, à étudier la survie de l'animal, après inoculation par voie intra-péritonéale de doses microbiennes déterminées, provenant de souches bien connues.

3. Technique

Les bacilles nécessaires à l'infestation artificielle des animaux d'expérience ont été obtenus par prélèvement à l'anse de platine, de colonies en plein développement, poussant sur des milieux de culture solides, ensemencés avec des souches fraîchement isolées.

Après pesage, les bacilles ainsi prélevés ont été séparés par malaxage à la spatule de platine, dans des matras contenant quelques gouttes de sérum physiologique, puis dispersés dans les quantités de sérum physiologique nécessaires à l'obtention d'émulsions-mères contenant 10 mg. de corps bacillaires par centimètre cube.

Les émulsions utilisées ensuite pour les inoculations ont été préparées par dilutions successives des émulsions-mères, toujours avec du sérum physiologique.

La quantité de liquide injecté par voie intra-péritonéale aux animaux d'expérience ne devant pas dépasser $^1/_2$ cc., nous avons calculé nos dilutions de telle sorte qu'à chaque dose infestante choisie corresponde, pour chaque souche bacillaire employée, une émulsion recelant par cc. le double de la dose microbienne en question.

Après mise en culture, pour contrôle, des émulsions les plus diluées, nous avons inoculé les animaux au moyen de petites seringues, montées d'aiguilles fines à biseau court, le tout préalablement stérilisé.

Précisons encore que toutes les manipulations décrites ci-dessus ont été effectuées dans des conditions d'asepsie stricte.

4. Application

Au total nous avons procédé à 4 séries d'inoculations ; 2 séries pour la détermination de la sensibilité du campagnol au bacille de type humain, et 2 séries pour la détermination de sa sensibilité au bacille de type bovin.

Dans chaque série, nous avons utilisé comme agent infestant, une souche microbienne particulière, étudiée spécialement pour ce travail ; les deux premières souches choisies présentant incontestablement les caractéristiques du type humain, les deux dernières celles du type bovin.

En vue des inoculations, nous avons dans notre élevage, choisi par une sélection attentive, 24 campagnols adultes et sains, pesant de 35 à 40 g., que nous avons répartis en 4 groupes de 6 individus, pour les besoins de nos diverses séries d'essais.

Dans un premier temps, nous avons inoculé tous les animaux destinés à nos expériences d'infestation par le bacille tuberculeux de type humain ; dans un deuxième temps, nous avons inoculé ceux destinés aux expériences parallèles relatives à l'infestation par le bacille de type bovin.

Etant donné, d'une part, le but de notre travail (vérification de l'existence chez le campagnol roussâtre d'une sensibilité plus grande au bacille tuberculeux de type bovin qu'au bacille de type humain) et d'autre part, le nombre restreint des animaux d'expérience dont nous disposions, nous devions, dans la gamme des doses infestantes raisonnables, faire un choix délicat, tendant à la fois, à mettre en évidence par la possibilité d'une comparaison directe la différence de sensibilité du rongeur aux deux types bacillaires, à prouver sa très grande susceptibilité à l'égard du type bovin, et à témoigner de sa résistance relative vis-à-vis du type humain, tout en nous limitant au nombre minimum indispensable de ces doses.

C'est en tenant compte de ces considérations que nous nous sommes arrêtés à : 1 mg. (dose forte) pour nos essais avec le bacille de type humain (par anticipation peu pathogène pour le campagnol), 10^{-6} mg. (dose très faible) pour nos essais avec le bacille de type bovin (par anticipation très pathogène pour le campagnol), 10^{-1} et 10^{-4} mg., pour nos essais avec les deux types (doses moyennes permettant la comparaison directe).

I. DÉTERMINATION EXPÉRIMENTALE DE LA SENSIBILITÉ DU CAMPAGNOL ROUSSATRE AU BACILLE TUBERCULEUX DE TYPE HUMAIN

Deux séries d'essais ont été faites, chacune avec une souche bacillaire particulière, de type humain, et chacune portant sur 6 campagnols roussâtres, inoculés par groupes de deux, avec des doses microbiennes de 1 mg., 10^{-1} et 10^{-4} mg.

a) PREMIÈRE SÉRIE D'INOCULATIONS

Nous avons utilisé dans cette série comme agent infestant, la souche bacillaire de type humain N° 94046.

Les six campagnols inoculés étaient numérotés de 1 à 6.

Etude de la souche infestante

Les bacilles de la souche N° 94046 provenaient des crachats d'un homme tuberculeux. Ils furent isolés le 15.5.56 par ensemencement sur milieu de Löwenstein, après traitement à l'acide sulfurique à 10 %.

Caractères de culture :

Ensemencement du bacille le 15.5.56 ; apparition des premières colonies le 4.6.56.

Le 29.6.56, date de l'inoculation des campagnols, la culture de première génération présentait l'aspect suivant : colonies ovalaires, sèches, rugueuses, relativement nombreuses, réunies en amas de 10 à 50, séparés par des espaces libres. Diamètre des colonies : ½ à 2 ½ mm. Surface irrégulière, très légèrement luisante en lumière frisante. Couleur beige-orangé.

Morphologie microscopique :

Assez longs bacilles aar, fins, se présentant en amas et débuts de cords. Granulations bipolaires (Ziehl). Gram. +.

Pouvoir pathogène : [1]

Une dose de 10^{-2} mg., injectée par voie sous-cutanée au cobaye, a tuberculisé et tué l'animal en un mois environ.

Une dose de 10^{-1} mg., injectée par voie intra-péritonéale au hamster, a tuberculisé et tué l'animal en 2 mois et demi environ.

Une dose de 10^{-2} mg., injectée par voie intra-veineuse au lapin, n'avait pas encore tué l'animal après 145 jours.

Conclusion :

La souche N° 94046 utilisée ici est bien une souche de type humain, eugonique, virulente.

Préparation des émulsions bacillaires

35 mg. de corps bacillaires secs furent prélevés dans la culture de première génération décrite ci-dessus.

Les germes furent ensuite séparés et mis en émulsion dans 3,5 cc. d'eau physiologique pour constituer l'émulsion-mère A contenant 10 mg. de bacilles par cc.

Par dilutions successives, nous avons alors obtenu les trois émulsions nécessaires à cette première série d'inoculations :

Emulsion I contenant 2/10 000 mg. de bacilles par cc.

---

[1] Voir tableau N° 2.

Emulsion II contenant 2/10 mg. de bacilles par cc.
Emulsion III contenant 2 mg. de bacilles par cc.

Contrôle des émulsions :

Les différentes émulsions étant préparées par un procédé de dilutions successives, il suffisait pour s'assurer de leur réelle teneur en éléments microbiens, de contrôler l'émulsion de plus forte dilution.

Le contrôle a été fait par cultures quantitatives sur milieu de Löwenstein. Deux tubes ont été ensemencés, chacun avec ½ cc. de l'émulsion I. Résultat : sur chacun des tubes, 15 jours après l'ensemencement, apparaissaient environ 300 colonies.

Inoculations [1]

Les campagnols Nos 1 et 2 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion I (dose infestante : 10^{-4} mg.).

Les campagnols Nos 3 et 4 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion II (dose infestante : 10^{-1} mg.).

Les campagnols Nos 5 et 6 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion III (dose infestante : 1 mg.).

Les inoculations furent faites par voie intra-péritonéale le 29.6.56.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Première série d'essais. Souche inoculée : N° 94 046.

Dose infestante inoculée par voie intra-péritonéale		10^{-4} mg.	10^{-1} mg.	1 mg.
Campagnols inoculés	Nombre	2	2	2
	Numéro	1 et 2	3 et 4	5 et 6

b) DEUXIÈME SÉRIE D'INOCULATIONS

Dans cette deuxième série, nous avons utilisé comme agent infestant, la souche bacillaire de type humain N° 94748.

Les six campagnols inoculés étaient numérotés de 7 à 12.

Etude de la souche infestante

Les bacilles de la souche N° 94748 provenaient des crachats d'un homme tuberculeux. Ils furent isolés le 1.6.56 par ensemencement sur milieu de Löwenstein, après traitement à l'acide sulfurique à 10 %.

Caractères de culture :

Ensemencement du bacille le 1.6.56 ; apparition des premières colonies le 18.6.56.

---

[1] Voir tableau N° 1.

Le 29.6.56, date de l'inoculation des campagnols, la culture de première génération présentait l'aspect suivant : colonies très nombreuses, serrées et confluentes, luisantes et légèrement humides. Diamètre des colonies : ¼ à 1 mm. Contours ovalaires, surface irrégulière, couleur jaune-citron à jaunâtre.

Morphologie microscopique :

Bacilles aar, courts, en amas (Ziehl). Gram +.

Pouvoir pathogène : [1]

Une dose de 10^{-2} mg. injectée par voie sous-cutanée au cobaye a tuberculisé et tué l'animal en 15 jours environ.

Une dose de 10^{-1} mg. injectée par voie intra-péritonéale au hamster n'avait pas encore tué l'animal après 145 jours.

Une dose de 10^{-2} mg. injectée par voie intra-veineuse au lapin n'avait pas encore tué l'animal après 145 jours.

Conclusion :

La souche N° 94748 utilisée dans cette série comme agent infestant est bien du type humain, eugonique, virulente.

Préparation des émulsions bacillaires

75 mg. de corps bacillaires secs furent prélevés dans la culture de première génération décrite dans les lignes précédentes.

Les germes furent ensuite séparés et mis en émulsion dans 7,5 cc. d'eau physiologique pour constituer l'émulsion-mère B contenant 10 mg. de bacilles par cc. Par dilutions successives, nous avons obtenu alors les 3 émulsions nécessaires à cette deuxième série d'inoculations :

Emulsion IV contenant 2/10 000 mg. bacilles par cc.
Emulsion V contenant 2/10 mg. de bacilles par cc.
Emulsion VI contenant 2 mg. de bacilles par cc.

Contrôle des émulsions :

Les différentes émulsions étant comme dans la première série préparées par un procédé de dilutions successives, il suffisait pour s'assurer de leur pouvoir infestant, de contrôler l'émulsion la plus diluée.

Le contrôle a été fait par cultures quantitatives sur milieu de Löwenstein. Deux tubes ont été ensemencés, chacun avec ½ cc. de l'émulsion IV.

Résultat, dans chacun des tubes, 15 jours après ensemencement, apparaissaient environ 1000 colonies.

Inoculations [2]

Les campagnols Nos 7 et 8 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion IV (dose infestante : 10^{-4} mg.).

Les campagnols Nos 9 et 10 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion V (dose infestante : 10^{-1} mg.).

---

1 Voir tableau N° 2.

2 Voir tableau N° 1.

Les campagnols Nos 11 et 12 ont reçu chacun 1/2 cc. de l'émulsion VI (dose infestante : 1 mg.).

Les inoculations furent pratiquées par voie intra-péritonéale le 29.6.56.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Deuxième série d'essais. Souche inoculée : No 94 748.				
Dose infestante inoculée par voie intra-péritonéale		10^{-4} mg.	10^{-1} mg.	1 mg.
Campagnols inoculés	Nombre	2	2	2
	Numéro	7 et 8	9 et 10	11 et 12

c) RÉSULTATS DES INOCULATIONS APRÈS 145 JOURS D'EXPÉRIENCE

Dans nos essais d'infestation expérimentale du campagnol roussâtre avec des souches bacillaires de type humain, nous avons fixé la durée de la période d'observation des animaux inoculés à 145 jours. C'est donc à la fin de ce délai que nous avons fait état des résultats de nos deux premières séries d'essais, résultats que nous publions ci-dessous.

Première série

Rappel : le 29.6.56, 6 campagnols numérotés 1 et 2, 3 et 4, 5 et 6, ont été inoculés par groupes de deux, respectivement avec des doses bacillaires de 10^{-4} mg., 10^{-1} mg. et 1 mg., provenant de la souche tuberculeuse de type humain No 94046. (Voir pages précédentes.)

Le 21.11.56, soit 145 jours après l'inoculation, comme fixé plus haut, nous constatons ce qui suit :

2 campagnols sont encore en vie ; il s'agit des animaux N^{os} 2 et 6, infestés le premier avec 10^{-4} mg., le second avec 1 mg. de bacilles ;

4 campagnols sont morts dans l'intervalle ; il s'agit des animaux Nos 1, 3, 4, 5.

Le campagnol N° 1 inoculé avec une dose bacillaire de 10^{-4} mg. est décédé 81 jours après l'inoculation. Présentant à l'autopsie des signes de gastro-entéro-colite aiguë, il est exclu de la statistique pour affection intercurrente.

Le campagnol N° 3 inoculé avec une dose bacillaire de 10^{-1} mg. est mort 2 jours après l'inoculation ; il est exclu d'emblée pour affection intercurrente également.

Le campagnol N° 4 inoculé avec une dose bacillaire de 10^{-1} mg. a péri 68 jours après l'inoculation. L'autopsie montre des lésions tuberculeuses étendues atteignant en particulier les poumons et la rate, où les frottis révèlent la présence d'innombrables bacilles aar. Les cultures faites à partir de la rate, sur milieu de Löwenstein, sont positives. Cause incontestable de la mort : tuberculose généralisée, surtout pulmonaire et splénique.

Le campagnol N° 5 inoculé avec une dose bacillaire de 1 mg. est mort 94 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses généralisées avec

prédominance pulmonaire et splénique. Frottis de : foie, rate, reins et poumons : positifs. Cultures à partir de la rate : positives. Cause de la mort : tuberculose généralisée, atteignant en particulier les poumons et la rate.

En résumé : [1]

2 campagnols sont morts d'affection intercurrente et doivent être éliminés de la discussion des résultats,

2 campagnols sont morts de tuberculose dans le délai de 145 jours,

2 campagnols vivent encore après 145 jours.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Première série d'essais. Souche inoculée : N° 94 046. Résultats.

Doses inoculées	10^{-4} mg.		10^{-1} mg.		1 mg.	
Campagnols Nos	1	2	3	4	5	6
Survie en jours	81	VE	2	68	94	VE
Cause de la mort	MI	—	MI	TB	TB	—

VE = vit encore 145 jours après l'inoculation
MI = maladie intercurrente
TB = tuberculose

Deuxième série

Rappel : le 29.6.56, 6 campagnols numérotés 7 et 8, 9 et 10, 11 et 12, ont été inoculés par groupes de deux, respectivement avec des doses bacillaires de 10^{-4} mg., 10^{-1} mg. et 1 mg., provenant de la souche tuberculeuse de type humain No 94748. (Voir pages précédentes.)

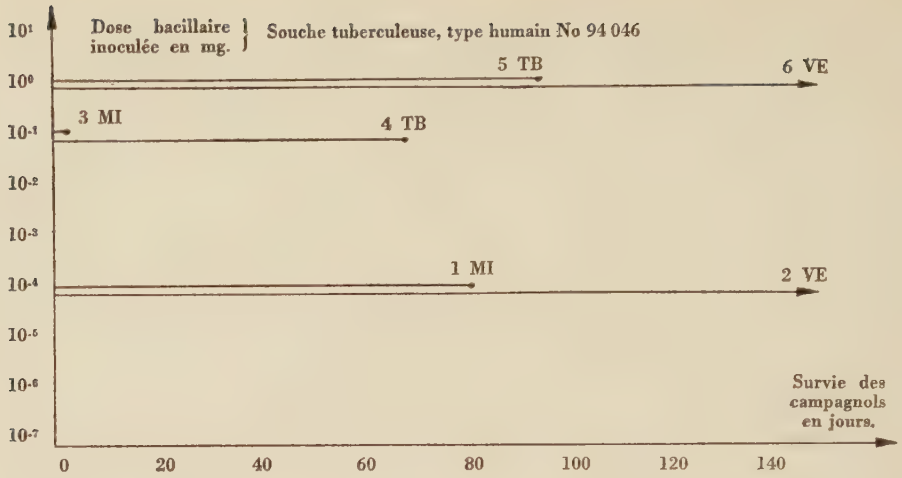
Le 21.11.56, soit 145 jours après l'inoculation, nous constatons ce qui suit :

5 campagnols sont encore en vie ; il s'agit des animaux Nos 7, 8, 9, 10 et 12, les deux premiers ayant été infestés avec une dose bacillaire de 10^{-4} mg. chacun, les deux suivants avec une dose de 10^{-1} mg. et le dernier avec une dose de 1 mg.

1 campagnol est mort dans l'intervalle ; il s'agit du campagnol N° 11, décédé 106 jours après l'inoculation. A l'autopsie, il présentait quelques signes minimes d'atteinte tuberculeuse aux deux poumons. Les frottis des divers organes étaient négatifs. La culture à partir des poumons positive. L'animal présentait en outre des signes indiscutables d'entérite aiguë, affection à laquelle il est le plus vraisemblable d'attribuer la cause de la mort. Il est donc exclu de la statistique.

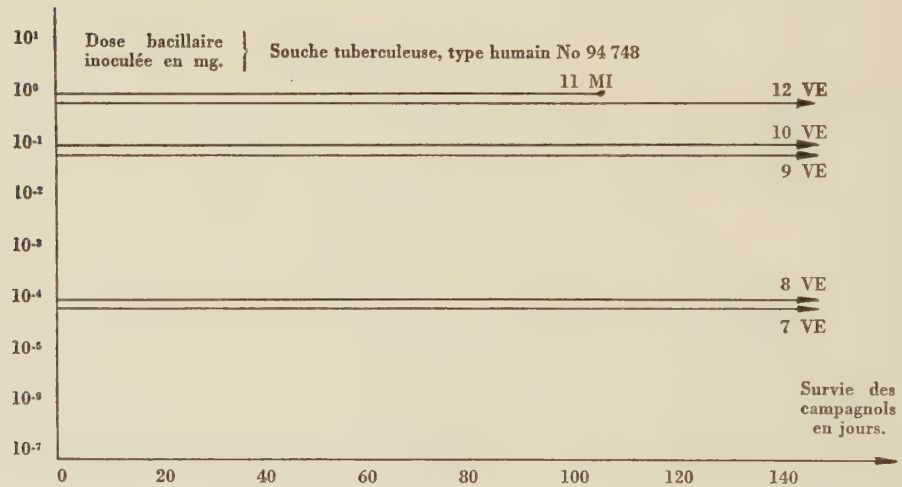
---

[1] Voir aussi tableau N° 3 et graphique N° 1.



Graphique N° 1 : Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Première série d'essais. — Résultats.

TB = mort de tuberculose. MI = mort de maladie intercurrente. VE = vit encore après 145 jours d'expérience. Chiffres arabes = numéros des animaux d'expérience.



Graphique N° 2 : Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Deuxième série d'essais. — Résultats.

MI = mort de maladie intercurrente. VE = vit encore après 145 jours d'expérience. Chiffres arabes = numéros des animaux d'expérience.

En résumé : [1]

1 campagnol est mort d'affection intercurrente dans le délai de 145 jours et est éliminé de la discussion.

5 campagnols vivent encore après 145 jours.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Deuxième série d'essais. Souche inoculée : No 94 748. Résultats.

Doses inoculées	10^{-4} mg.		10^{-1} mg.		1 mg.	
Campagnols Nos	7	8	9	10	11	12
Survie en jours	VE	VE	VE	VE	106	VE
Cause de la mort	—	—	—	—	MI	—

VE = vit encore 145 jours après l'inoculation
MI = maladie intercurrente

II. DÉTERMINATION EXPÉRIMENTALE DE LA SENSIBILITÉ DU CAMPAGNOL ROUSSATRE AU BACILLE TUBERCULEUX DE TYPE BOVIN

Comme dans l'étude de la sensibilité au type humain, deux séries d'essais ont été faites, chacune avec une souche particulière de type bovin, et chacune portant sur 6 campagnols roussâtres, inoculés par groupes de deux, avec des doses microbiennes en moyenne plus faibles, soit : 10^{-1} mg., 10^{-4} mg. et 10^{-6} mg.

a) PREMIÈRE SÉRIE D'INOCULATIONS

Nous avons utilisé ici comme agent infestant la souche de type bovin N° 81 168. [2]

Les six campagnols inoculés étaient numérotés de 13 à 18.

Etude de la souche infestante

Les bacilles de la souche N° 81168 provenaient des poumons d'une vache tuberculeuse. Ils furent isolés de ce matériel le 6.4.56, et mis en culture sur milieu à l'œuf avec et sans glycérine.

Caractères de culture :

Ensemencement du bacille le 6.4.56.

Le 20.7.56, date de l'inoculation des campagnols dans cette série, les cultures de première génération présentaient l'aspect suivant : colonies lisses,

---

1 Voir aussi tableau N° 3 et graphique N° 2.

2 Fournie par l'Institut Galli-Valério de Lausanne.

humides, plates ou légèrement bombées, jaunâtres, plus nombreuses sur milieu sans glycérine.

Morphologie microscopique :

Bacilles fins, aar, granuleux, se présentant en paquets. (Ziehl). Gram +.

Pouvoir pathogène : [1]

Une dose de 10^{-2} mg., injectée par voie sous-cutanée au cobaye, a tuberculisé l'animal et l'a tué en 3 mois environ.

Une dose de 10^{-1} mg., injectée par voie intra-péritonéale au hamster, a tuberculisé et tué l'animal en 1 mois et demi environ.

Une dose de 10^{-2} mg., inoculée par voie intra-veineuse au lapin, a tuberculisé et tué l'animal en moins de 3 mois (lapin de 2,5 kg.).

Conclusion :

La souche N° 81168 utilisée dans cette série d'essais, est bien une souche de type bovin, virulente, dysgonique.

Préparation des émulsions bacillaires

10 mg. de corps bacillaires secs furent prélevés dans la culture de première génération décrite ci-dessus (milieu sans glycérine). Les germes furent ensuite séparés et mis en émulsion dans 1 cc. d'eau physiologique, pour constituer l'émulsion-mère C, contenant 10 mg. de bacilles par cc.

Par dilutions successives, nous avons alors obtenu les trois émulsions nécessaires à cette première série d'inoculations avec le bacille de type bovin :
Emulsion VII contenant 2/1 000 000 mg. de bacilles par cc.
Emulsion VIII contenant 2/10 000 mg. de bacilles par cc.
Emulsion IX contenant 2/10 mg. de bacilles par cc.

Contrôle des émulsions :

Les émulsions étant toujours préparées par un procédé de dilutions successives, nous n'avons contrôlé que l'émulsion la plus diluée. Le contrôle a été fait par culture quantitative sur milieu à l'œuf ; il permettait de s'assurer de la réelle teneur en éléments microbiens de toutes les émulsions.

Dans un premier tube ensemencé avec ½ cc. de l'émulsion VII. on constatait 40 jours environ après l'ensemencement, l'apparition d'une centaine de colonies. Dans un deuxième tube ensemencé également avec ½ cc. de l'émulsion VII, 5 colonies apparaissaient 50 jours environ après l'ensemencement.

Inoculations [2]

Les campagnols Nos 13 et 14 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion VII (dose infestante : 10^{-6} mg.).

Les campagnols Nos 15 et 16 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion VIII (dose infestante : 10^{-4} mg.).

Les campagnols Nos 17 et 18 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion IX (dose infestante : 10^{-1} mg.).

Les inoculations furent faites par voie intra-péritonéale le 20.7.56.

---

[1] Voir tableau N° 2.

[2] Voir tableau N° 1.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Première série d'essais. Souche inoculée : N° 81 168.				
Dose infestante inoculée par voie intra-péritonéale		10^{-6} mg.	10^{-4} mg.	10^{-1} mg.
Campagnols inoculés	Nombre	2	2	2
	Numéro	13 et 14	15 et 16	17 et 18

b) DEUXIÈME SÉRIE D'INOCULATIONS

Dans cette série nous avons utilisé comme agent infestant la souche bacillaire de type bovin N° 72697 [1].

Les six campagnols inoculés étaient numérotés de 19 à 24.

Etude de la souche infestante

Les bacilles de la souche N° 72697 ont été isolés des ganglions cervicaux d'un enfant de 7 ans par le Professeur Urech à Saint-Loup, et mis en culture sur milieux à l'œuf avec et sans glycérine le 14.9.55.

Un cobaye inoculé le 16.7.55 est mort de tuberculose généralisée le 14.9.55. Un lapin inoculé le 23.4.56 est mort de tuberculose généralisée le 28.6.56. Les cultures ont été repiquées le 12.12.55 [2].

Caractères de culture :

Ensemencement du bacille le 14.9.55. Réensemencement le 12.12.55. Le 20.7.56, date de l'inoculation des campagnols, les cultures de première et de deuxième générations, présentaient l'aspect suivant : colonies humides, lisses, plates ou légèrement bombées, très nombreuses et confluentes, surtout sur milieu sans glycérine.

Morphologie microscopique :

Bacilles aar ; certains sont fins et granuleux, les autres sont trapus. (Ziehl) Gram +.

Pouvoir pathogène : [3]

Une dose de 10^{-2} mg., injectée par voie sous-cutanée à un nouveau cobaye, a tuberculisé l'animal et l'a tué en 40 jours environ.

Une dose de 10^{-1} mg., injectée par voie intra-péritonéale au hamster, a tuberculisé et tué l'animal en 1 mois et demi environ.

Une dose de 10^{-2} mg., injectée par voie intra-veineuse à un nouveau lapin, a tuberculisé et tué l'animal en 3 mois et demi environ (lapin de 2,5 kg.).

---

1 Souche aimablement fournie par l'Institut vétérinaire Galli-Valério de Lausanne.

2 Les renseignements contenus dans ce paragraphe nous ont été communiqués par l'Institut Galli-Valério.

3 Voir tableau N° 2.

Conclusion :

La souche N° 72697 utilisée dans cette série d'inoculations est bien une souche de type bovin, virulente, dysgonique.

Préparation des émulsions bacillaires

25 mg. de corps bacillaires secs furent prélevés sur une des cultures décrites ci-dessus (première génération, milieu sans glycérine). Les germes furent ensuite séparés et mis en émulsion dans 2,5 cc. d'eau physiologique, pour constituer l'émulsion-mère D, contenant 10 mg. de bacilles par cc.

Par dilutions successives, nous avons obtenu alors les trois émulsions nécessaires à cette dernière série d'essais :

Emulsion X contenant 2/1 000 000 mg. de bacilles par cc.
Emulsion XI contenant 2/10 000 mg. de bacilles par cc.
Emulsion XII contenant 2/10 mg. de bacilles par cc.

Contrôle des émulsions :

Comme précédemment, nous n'avons contrôlé que l'émulsion la plus diluée. Les différentes émulsions étant préparées par un procédé d'extension, ce contrôle suffisait pour s'assurer du pouvoir infestant de toutes les émulsions.

Le contrôle a été fait par cultures quantitatives sur milieu à l'œuf. Dans un premier tube ensemencé avec ½ cc. de l'émulsion X, nous avons constaté 40 jours après l'ensemencement l'apparition de nombreuses colonies. Dans un deuxième tube ensemencé de la même façon avec l'émulsion X également : même résultat dans un laps de temps légèrement plus grand.

Inoculations [1]

Les campagnols Nos 19 et 20 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion X (dose infestante : 10^{-6} mg.).

Les campagnols Nos 21 et 22 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion XI (dose infestante : 10^{-4} mg.).

Les campagnols Nos 23 et 24 ont reçu chacun ½ cc. de l'émulsion XII (dose infestante : 10^{-1} mg.).

Les inoculations furent pratiquées par voie intra-péritonéale le 20.7.56.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Deuxième série d'essais. Souche inoculée : No 72 697.

Dose infestante inoculée par voie intra-péritonéale		10^{-6} mg.	10^{-4} mg.	10^{-1} mg.
Campagnols inoculés	Nombre	2	2	2
	Numéro	19 et 20	21 et 22	23 et 24

[1] Voir tableau N° 1.

TABLEAU N° 1

Souche bacillaire type et numéro	Campagnols inoculés	Dose infestante			
		10^{-6} mg.	10^{-4} mg.	10^{-1} mg.	1 mg.
Humain	Nombre		2	2	2
94046	Numéro		1 et 2	3 et 4	5 et 6
Humain	Nombre		2	2	2
94748	Numéro		7 et 8	9 et 10	11 et 12
Bovin	Nombre	2	2	2	
81168	Numéro	13 et 14	15 et 16	17 et 18	
Bovin	Nombre	2	2	2	
72697	Numéro	19 et 20	21 et 22	23 et 24	

Récapitulation de nos 4 séries d'essais. Animaux inoculés, doses et souches bacillaires utilisées.

TABLEAU N° 2

SC = sous-cutané. IP = intra-péritonéal. IV = intra-veineux.
TB = tuberculose.

Pouvoir pathogène de la souche bacillaire de type humain No 94046, déterminé par inoculations aux animaux de laboratoire habituellement utilisés.			
Animal inoculé	Cobaye	Hamster	Lapin
Dose bacillaire inoculée	10^{-2} mg.	10^{-1} mg.	10^{-2} mg.
Voie d'inoculation	SC	IP	IV
Résultat de l'inoculation	TB généralisée mort en 1 mois	TB généralisée mort en 2 1/2 mois	L'animal vit encore 145 j. ap. l'inocul.
Pouvoir pathogène de la souche bacillaire de type humain No 94748, déterminé par inoculations aux animaux de laboratoire habituellement utilisés.			
Animal inoculé	Cobaye	Hamster	Lapin
Dose bacillaire inoculée	10^{-2} mg.	10^{-1} mg.	10^{-2} mg.
Voie d'inoculation	SC	IP	IV
Résultat de l'inoculation	TB généralisée mort en 15 j. environ	L'animal vit encore 145 j. ap. l'inocul.	L'animal vit encore 145 j. ap. l'inocul.

TABLEAU N₀ 2 (Suite)

Pouvoir pathogène de la souche bacillaire de type bovin No 81168, déterminé par inoculations aux animaux de laboratoire habituellement utilisés.			
Animal inoculé	Cobaye	Hamster	Lapin
Dose bacillaire inoculée	10^{-2} mg.	10^{-1} mg.	10^{-2} mg.
Voie d'inoculation	SC	IP	IV
Résultat de l'inoculation	TB généralisée mort en 3 mois	TB généralisée mort en 1 1/2 mois	TB généralisée mort av. 3 mois
Pouvoir pathogène de la souche bacillaire de type bovin No 72697, déterminé par inoculations aux animaux de laboratoire habituellement utilisés.			
Animal inoculé	Cobaye	Hamster	Lapin
Dose bacillaire inoculée	10^{-2} mg.	10^{-1} mg.	10^{-2} mg.
Voie d'inoculation	SC	IP	IV
Résultat de l'inoculation	TB généralisée mort en 40 j. environ	TB généralisée mort en 1 1/2 mois environ	TB généralisée mort en 3 1/2 mois environ

c) RÉSULTATS DES INOCULATIONS APRÈS 125 JOURS D'EXPÉRIENCE

Dans nos essais d'infestation expérimentale du campagnol roussâtre avec des souches bacillaires de type bovin, nous avons fixé la durée de la période d'observation des animaux inoculés à 125 jours. C'est donc à la fin de ce délai que nous avons fait état des résultats de nos deux dernières séries d'essais, résultats que nous rapportons dans les lignes qui suivent.

Première série

Rappel : le 20.7.56, 6 campagnols numérotés 13 et 14, 15 et 16, 17 et 18, ont été inoculés par groupes de deux, respectivement avec des doses bacillaires de 10^{-6} mg., 10^{-4} mg. et 10^{-1} mg., provenant de la souche tuberculeuse de type bovin N⁰ 81168. (Voir pages précédentes.)

Le 22.11.56, soit 125 jours après l'inoculation, comme déterminé ci-dessus, nous constatons ce qui suit :

1 campagnol seul est encore en vie ; il s'agit de l'animal N⁰ 16, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-4} mg.

5 campagnols sont morts dans l'intervalle ; il s'agit des animaux N⁰ 13, 14, 15, 17 et 18.

Le campagnol N⁰ 13 est mort 36 jours après l'inoculation. A l'autopsie il présentait une hypertrophie de la rate, et les frottis de cet organe montraient de nombreux bacilles aar. Les cultures à partir de la rate se révélaient positives. Mais le campagnol présentait aussi les signes d'une affection inflammatoire aiguë du tractus digestif, raison pour laquelle il ne sera pas tenu compte dans la discussion de nos résultats de cet animal. Il avait été infesté avec une dose bacillaire de 10^{-6} mg.

Le campagnol N⁰ 14, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-6} mg., est mort 102 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses très

étendues atteignant en particulier : foie, rate, reins et poumons. Frottis positifs. Cultures à partir de la rate positives. Le campagnol est donc mort d'une tuberculose évolutive généralisée. Le campagnol N° 15, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-4} mg., est mort 98 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses généralisées, atteignant surtout la rate et les poumons, mais aussi le foie et les reins. Frottis à partir de ces organes : montrent d'innombrables bacilles aar. Cultures à partir de la rate : positives. Cause incontestable de la mort : tuberculose évolutive généralisée.

Le campagnol N° 17, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-1} mg., est mort 49 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses généralisées, prédominant au foie, à la rate et aux poumons. Frottis à partir de la rate et du foie : très positifs. Cultures par ensemencement de matériel prélevé dans la rate : positives. Cause de la mort : tuberculose grave, généralisée (les reins semblent épargnés).

Le campagnol N° 18, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-1} mg., est mort 61 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses très étendues, surtout à la rate, au foie et aux reins. Frottis à partir de la rate : montrent d'innombrables bacilles aar. Cultures par prélèvement sur le même organe : positives. (Ici les poumons semblent moins atteints que les autres organes.)

En résumé : [1]

1 campagnol vit encore après 125 jours.
1 campagnol est décédé d'affection intercurrente et doit être éliminé.
4 campagnols sont morts de tuberculose dans le délai de 125 jours fixé.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Première série d'essais. Souche inoculée N° 81 168. Résultats.

Doses inoculées	10^{-6} mg.		10^{-4} mg.		10^{-1} mg.	
Campagnols Nos	13	14	15	16	17	18
Survie en jours	36	102	98	VE	49	61
Cause de la mort	MI	TB	TB	—	TB	TB

VE = vit encore 125 jours après l'inoculation.
MI = maladie intercurrente.
TB = tuberculose.

Deuxième série

Rappel : le 20.7.56, 6 campagnols numérotés 19 et 20, 21 et 22, 23 et 24, ont été inoculés par groupes de deux, respectivement avec des doses bacillaires de 10^{-6} mg., 10^{-4} mg. et 10^{-1} mg., provenant de la souche tuberculeuse de type bovin N° 72697.

[1] Voir tableau N° 3 et graphique N° 3.

Le 22.11.56, soit 125 jours après l'inoculation, comme décidé (voir plus haut), nous constatons ce qui suit :

Aucun campagnol n'est encore en vie.

Les six campagnols inoculés sont tous morts dans l'intervalle.

Le campagnol N° 19, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-6} mg., est mort 77 jours après l'inoculation. A l'autopsie, il présentait des lésions tuberculeuses étendues, surtout à la rate, aux poumons et au foie. Les frottis à partir de ces organes montraient d'innombrables bacilles aar. Les frottis à partir des reins étaient aussi positifs. Cultures par prélèvement sur la rate : positives. Cause incontestable de la mort : tuberculose évolutive généralisée.

Le campagnol N° 20, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-6} mg., est mort 103 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses étendues prédominant à la rate. Frottis de la rate : montrent d'innombrables bacilles aar. Cultures positives. Cause de la mort : tuberculose grave à prédominance splénique.

Le campagnol N° 21, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-4} mg., est mort 52 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses très marquées dans le foie, la rate et les poumons. Les reins semblent épargnés macroscopiquement. Frottis de foie, rate et poumons : montrent d'innombrables bacilles aar. Cultures à partir de la rate : positives. L'animal est décédé de tuberculose généralisée.

Le campagnol N° 22, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-4} mg., est mort 54 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses importantes atteignant surtout la rate et les poumons. Frottis à partir de la rate : positifs. Cultures par prélèvement sur le même organe : positives. Cause de la mort : tuberculose généralisée, mais surtout pulmonaire et splénique.

Le campagnol N° 23, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-1} mg., est mort 22 jours après l'inoculation. A l'autopsie : lésions tuberculeuses au foie, à la rate et aux poumons. Aux reins : pas de lésion décelable. Frottis du foie, de la rate et des poumons : montrent d'innombrables bacilles aar. Cultures à partir de la rate : positives. Cause de la mort : tuberculose splénique, pulmonaire et hépatique.

Le campagnol N° 24, infesté avec une dose bacillaire de 10^{-1} mg., est mort 43 jours après l'inoculation. A l'autopsie : hypertrophie hépatique et splénique, lésions tuberculeuses très marquées aux poumons. Frottis de foie, rate, reins et poumons : positifs. Cultures à partir de la rate : positives. Cause de la mort : tuberculose généralisée.

Chez aucun de ces six animaux, il ne nous fut possible de déceler un quelconque signe d'affection intercurrente.

En résumé : [1]

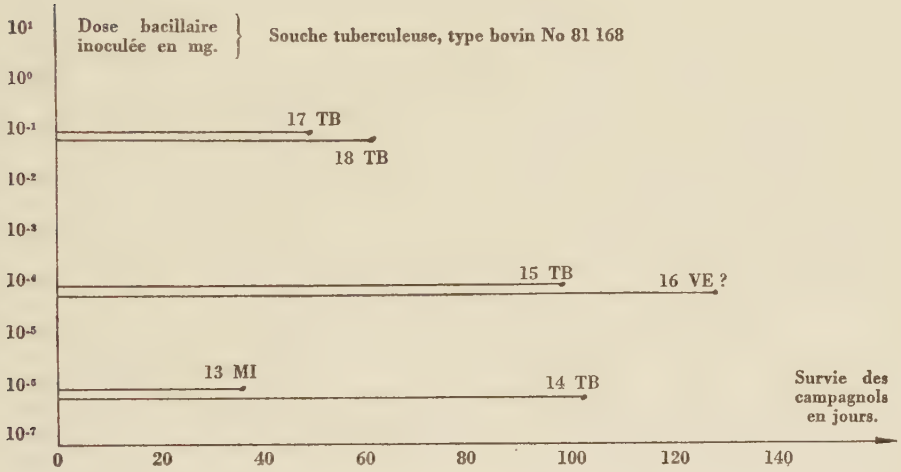
Aucun campagnol ne vit encore après 125 jours.
Aucun n'est décédé d'affection intercurrente.
6 sont morts de tuberculose dans le délai de 125 jours.

---

[1] Voir tableau N° 3 et graphique N° 4.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Deuxième série d'essais. Souche inoculée : No 72 697. Résultats.						
Doses inoculées	10^{-6} mg.		10^{-4} mg.		10^{-1} mg.	
Campagnols Nos	19	20	21	22	23	24
Survie en jours	77	103	52	54	22	43
Cause de la mort	TB	TB	TB	TB	TB	TB

TB = tuberculose.



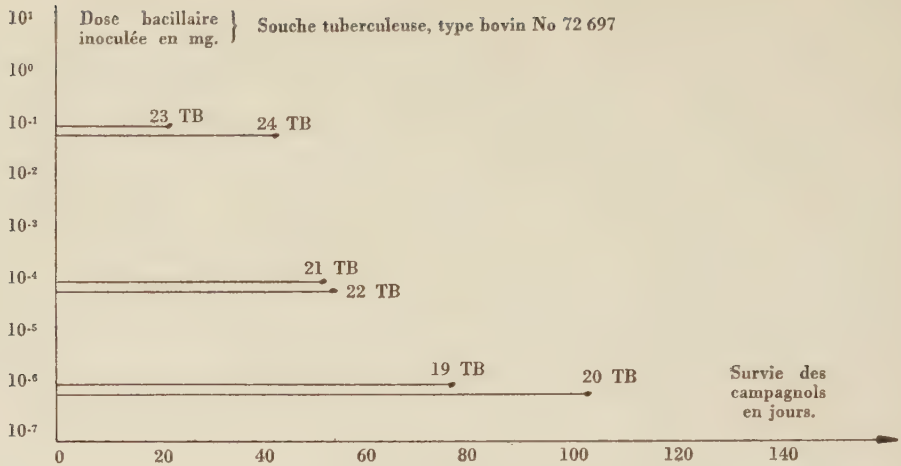
Graphique N⁰ 3 : Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Première série d'essais. — Résultats.

TB = mort de tuberculose. MI = mort de maladie intercurrente. VE = vit encore après 125 jours d'expérience. Chiffres arabes = numéros des animaux d'expérience. ? = voir discussion de nos résultats.

III. DISCUSSION DES RÉSULTATS, SENSIBILITÉ COMPARÉE DU CAMPAGNOL AUX DEUX TYPES BACILLAIRES

A) EXAMEN DES RÉSULTATS ENVISAGÉS DANS LEUR ENSEMBLE

Globalement, sans tenir compte des doses inoculées et des souches bacillaires particulières utilisées, nous avons dans l'ensemble de nos 4 séries d'essais, infesté 12 campagnols roussâtres avec du bacille tuberculeux de type humain



Graphique N⁰ 4 : Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Deuxième série d'essais. — Résultats.

TB = mort de tuberculose. Chiffres arabes = numéros des animaux d'expérience.

(deux premières séries), et 12 campagnols roussâtres avec du bacille tuberculeux de type bovin (deux dernières séries).

Infestation avec le bacille tuberculeux de type humain

Parmi les 12 campagnols inoculés avec le bacille de type humain, 3 sont morts en cours d'expérience d'affections intercurrentes et sont exclus de la discussion. Parmi les 9 autres, 2 sont décédés de tuberculose plus ou moins généralisée, mais prédominant aux poumons et à la rate, le premier 68 jours après inoculation, le second 94 jours après inoculation. Les 7 derniers étaient encore en vie après 145 jours d'expérience.

Donc, en ne tenant aucun compte des campagnols morts d'affections intercurrentes, 7 sur 9 ont survécu à l'infestation par le bacille tuberculeux de type humain (provenant de deux souches dont le pouvoir pathogène a été contrôlé) pendant au moins 145 jours.

Autrement dit, 22 % des campagnols sont morts de tuberculose entre le 68^{me} et le 145^{me} jours de l'expérience, 78 % des campagnols ont résisté à l'inoculation et ont passé le 145^{me} jour apparemment sains.

Infestation avec le bacille tuberculeux de type bovin

Parmi les 12 campagnols inoculés avec le bacille de type bovin, 1 seul est mort d'affection intercurrente. Parmi les 11 autres, 10 sont morts de tuberculose généralisée entre le 22^{me} et le 125^{me} jours de l'expérience.

(De ces 10, celui qui a survécu le plus longtemps est mort le 103^{me} jour de l'expérience). Le 11^{me} a résisté à l'infestation pendant 125 jours au moins, et était apparemment sain lors du contrôle fait le 125^{me} jour.

TABLEAU N° 3

Sensibilité du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain et bovin. Survie des campagnols inoculés.

Animaux d'expérience	Matériel infestant Bac. tuberculeux		Doses inoculées. Survie des animaux en jours			
Campagnols Numéros	Type de la souche	No de la souche	10^{-6} mg.	10^{-4} mg.	10^{-1} mg.	1 mg.
1	H	94046		(81)		
2	H	94046		VE		
3	H	94046			(2)	
4	H	94046			68	
5	H	94046				94
6	H	94046				VE
7	H	94748		VE		
8	H	94748		VE		
9	H	94748			VE	
10	H	94748			VE	
11	H	94748				(106)
12	H	94748				VE
13	B	81168	36			
14	B	81168	102			
15	B	81168		98		
16	B	81168		ve		
17	B	81168			49	
18	B	81168			61	
19	B	72697	77			
20	B	72697	103			
21	B	72697		52		
22	B	72697		54		
23	B	72697			22	
24	B	72697			43	

H = humain. B = bovin. VE = vit encore après 145 jours. ve = vit encore après 125 jours. (...) = signe indiquant que l'animal est mort d'une affection intercurrente.

Donc, en excluant le campagnol mort d'affection intercurrente, nous relevons que sur 11 campagnols infestés avec du bacille tuberculeux de type bovin virulent, 1 seul a survécu à l'infestation pendant au moins 125 jours.

Autrement dit, 91 % des campagnols sont morts de tuberculose entre le 22me et le 125me jours de l'expérience, 9 % des campagnols ont survécu au moins 125 jours.

Interprétation de nos résultats envisagés dans leur ensemble				
Type bacillaire infestant	Nombre d'animaux infestés	Sont morts d'affections intercurrentes	Sont morts de tuberculose	Ont résisté à l'infestation
Humain	12	3	2 = 22 %	7 = 78 %
Bovin	12	1	10 = 81 %	1 = 9 %

Conclusion [1]

Ces chiffres, bien qu'ayant une valeur relative, montrent de façon absolument évidente, que le campagnol roussâtre présente bien une sensibilité nettement plus grande au bacille tuberculeux de type bovin qu'au bacille tuberculeux de type humain.

B) EXAMEN DES RÉSULTATS OBTENUS AVEC LA SOUCHE DE TYPE HUMAIN N° 94748 ET AVEC LA SOUCHE DE TYPE BOVIN N° 72697

La différence de sensibilité aux deux types bacillaires envisagés est encore plus nette si l'on compare les résultats de la deuxième série de nos essais avec le type humain, et ceux de la deuxième série de nos essais avec le type bovin.

Infestation par la souche de type humain N° 94748

Parmi les six campagnols inoculés avec le bacille de cette souche, 5 ont survécu pendant au moins 145 jours, 1 est mort d'affection intercurrente et doit être exclu.

Donc, 5 campagnols sur 5 ont résisté à l'infestation pendant plus de 145 jours, soit 100 %.

Infestation par la souche de type bovin N° 72697

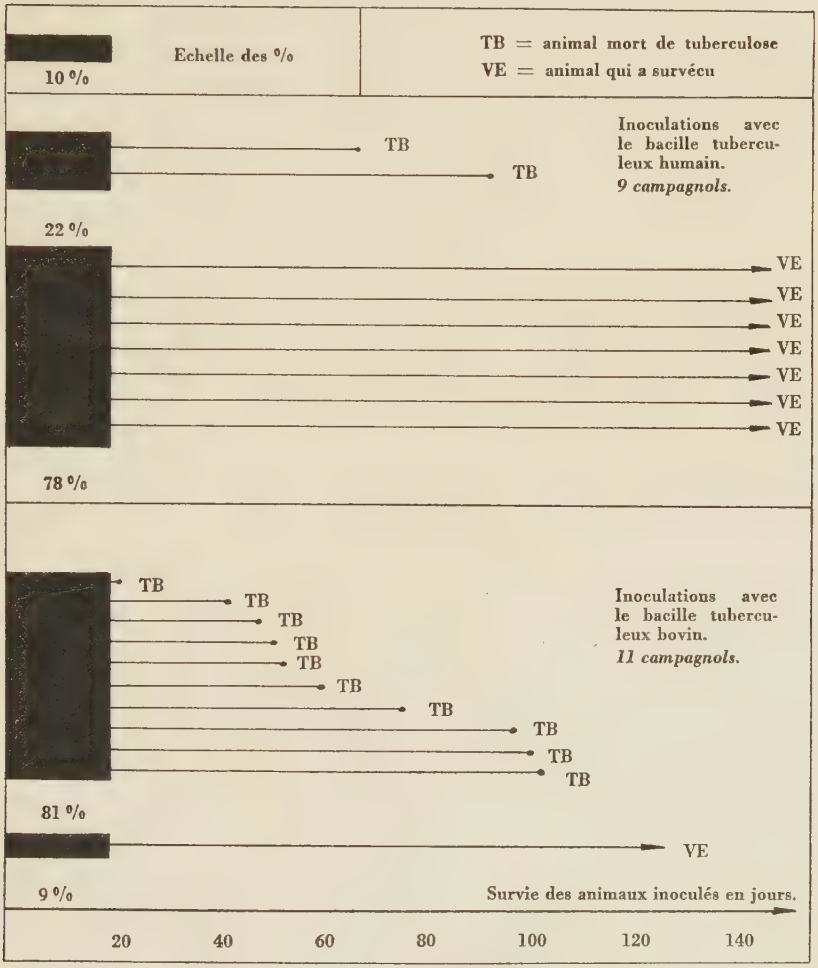
Dans cette série d'inoculations, les six campagnols infestés sont morts de tuberculose généralisée entre le 22me et le 103me jours de l'expérience. Aucun par conséquent n'a dépassé le délai de 125 jours fixé pour l'observation des animaux inoculés avec du bacille de type bovin.

Donc, 6 campagnols sur 6 sont morts de tuberculose en cours d'expérience, soit 100 %.

---

[1] Voir graphique N° 5.

Interprétation des résultats obtenus avec la souche de type humain No 94 748 et de ceux obtenus avec la souche de type bovin N° 72 697.				
Type bacillaire infestant	Nombre d'animaux infestés	Sont morts d'affections intercur.	Sont morts de tuberculose	Ont résisté à l'infestation
Humain	6	1	0 = 0 %	5 = 100 %
Bovin	6	0	6 = 100 %	0 = 0 %



Graphique N° 5 : Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain. Pourcentage des animaux morts de tuberculose en cours d'expérience et des animaux qui ont résisté à l'infestation bacillaire.

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin. Pourcentage des animaux morts de tuberculose en cours d'expérience et des animaux qui ont résisté à l'infestation bacillaire.
Détail des survies après les inoculations.

Conclusion [1]

Les résultats obtenus dans ces deux séries d'essais sont très favorables au but poursuivi dans notre travail. Toutefois, nous ne voudrions pas les présenter sans insister encore sur le fait que les chiffres par lesquels ils s'expriment ont une valeur relative en raison du nombre restreint des animaux qui furent utilisés.

C) EXAMEN DES RÉSULTATS OBTENUS AVEC LA SOUCHE DE TYPE HUMAIN N° 94046 ET AVEC LA SOUCHE DE TYPE BOVIN N° 81168

Dans la comparaison des résultats de la première série d'essais avec le type humain et de ceux de la première série avec le type bovin, la différence de sensibilité du campagnol roussâtre aux deux types bacillaires considérés, n'est malheureusement pas si manifeste. Toutefois, elle reste certainement appréciable, et serait peut-être plus nette si dans ces séries moins d'animaux n'étaient morts d'affections intercurrentes.

Infestation par la souche de type humain N° 94046

Parmi les campagnols inoculés avec cette souche, sur 6, 2 sont décédés d'affections intercurrentes, 2 sont morts de tuberculose le 68^{me} et le 84^{me} jours après inoculation, et 2 étaient encore en vie après 145 jours d'expérience.

Donc, sur les 4 campagnols dont on peut tenir compte, 2 ont survécu à l'infestation pendant plus de 145 jours, soit 50 %.

Infestation par la souche de type bovin N° 81168

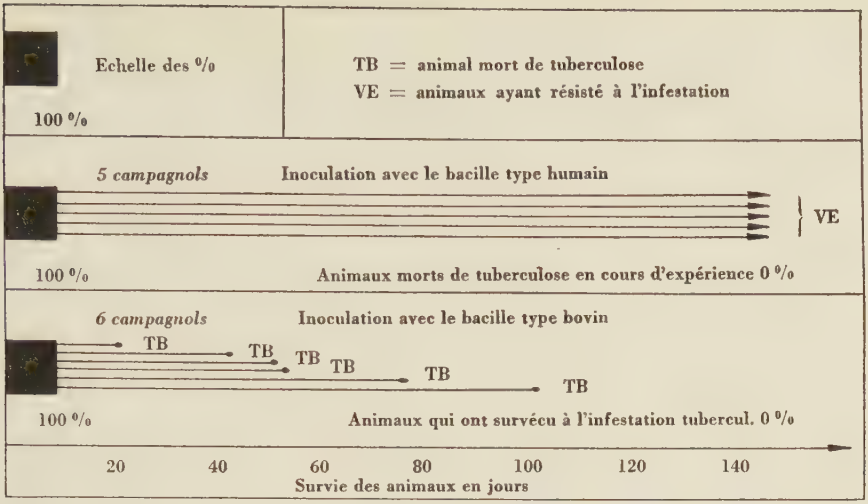
Parmi les campagnols inoculés dans cette série d'essais, 1 est mort d'affection intercurrente, 4 sont décédés de tuberculose généralisée entre le 49^{me} et le 102^{me} jours d'expérience, 1 a survécu au-delà du 125^{me} jour.

Donc, sur 5 campagnols pris en considération, 4 sont morts de tuberculose avant le 125^{me} jour d'expérience, soit 80 %, et 1 a résisté, soit 20 %.

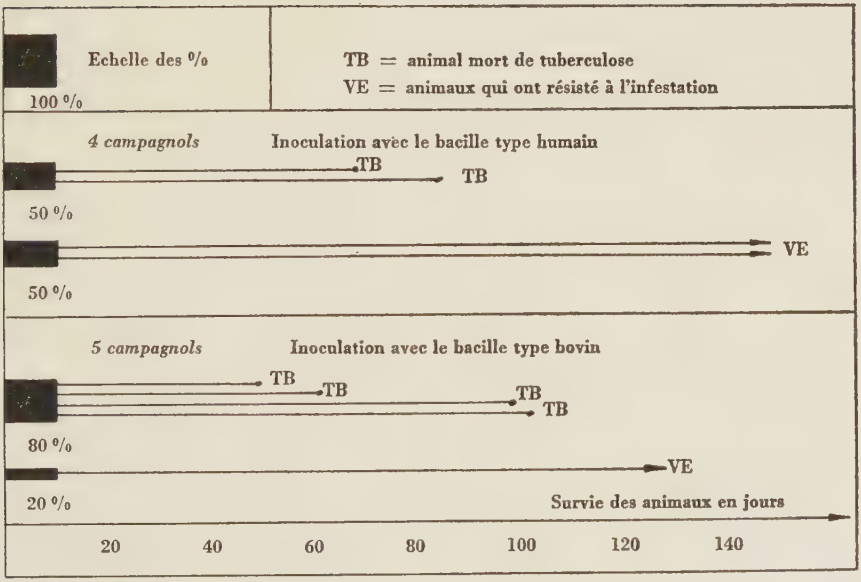
Interprétation des résultats obtenus avec la souche de type humain No 94 046 et de ceux obtenus avec la souche de type bovin No 81 168.

Type bacillaire infestant	Nombre d'animaux infestés	Sont morts d'affection intercur.	Sont morts de tuberculose	Ont résisté à l'infestation
Humain	6	2	2 = 50 %	2 = 50 %
Bovin	6	1	4 = 80 %	1 = 20 %

[1] Voir graphique N° 6.



Graphique N° 6 : Sensibilité comparée du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain : SOUCHE N° 94748, et bovin : SOUCHE N° 72697.



Graphique N° 7 : Sensibilité comparée du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain : SOUCHE N° 94046, et bovin : SOUCHE N° 81168.

Conclusion [1]

Ainsi, si a priori la différence de sensibilité du campagnol roussâtre aux types bacillaires humain et bovin ne paraît pas évidente dans la comparaison des résultats de ces deux séries défavorables, elle est néanmoins claire, nettement calculable et définie.

D) EXAMEN DES RÉSULTATS PAR RAPPORT AUX DOSES INOCULÉES

Jusqu'ici dans l'étude de nos résultats, nous n'avons tenu aucun compte des doses inoculées. Rappelant que ces doses sont en moyenne plus faibles dans nos essais avec les bacilles de souches bovines que dans nos essais avec les bacilles de souches humaines (à savoir, respectivement : 10^{-6}, 10^{-4} et 10^{-1} mg., d'une part, et 10^{-4}, 10^{-1} et 1 mg., d'autre part) ce qui confirme et renforce encore la différence de sensibilité du campagnol aux deux types bacillaires considérés, nous examinerons dans les lignes suivantes, à doses égales, les effets sur nos animaux d'expérience, des deux types d'agents tuberculeux.

Première dose commune : 10^{-4} mg.

Infestation par du bacille de type humain.

Parmi les 4 campagnols inoculés avec une telle dose bacillaire de type humain, 1 est mort d'affection intercurrente, les 3 autres sont encore en vie après 145 jours d'expérience.

Donc, sur 3 campagnols pris en considération, 3 ont survécu, soit 100 %.

Infestation par du bacille de type bovin.

Parmi les campagnols inoculés avec la même dose bacillaire de type bovin, sur 4, aucun n'est mort d'affection intercurrente. 3 sont morts de tuberculose généralisée pendant les 125 jours d'expérience (à savoir : le 52^{me}, le 54^{me} et le 98^{me} jours), 1 a survécu et a dépassé le 125^{me} jour.

Donc, 3 campagnols sur 4 sont morts de tuberculose en cours d'expérience, soit 75 %, et 1 a résisté à l'infestation, soit 25 %.

Conclusion [2]

Ici encore, différence de sensibilité du campagnol vis-à-vis des deux types bacillaires : évidente.

Deuxième dose commune : 10^{-1} mg.

Infestation par du bacille de type humain.

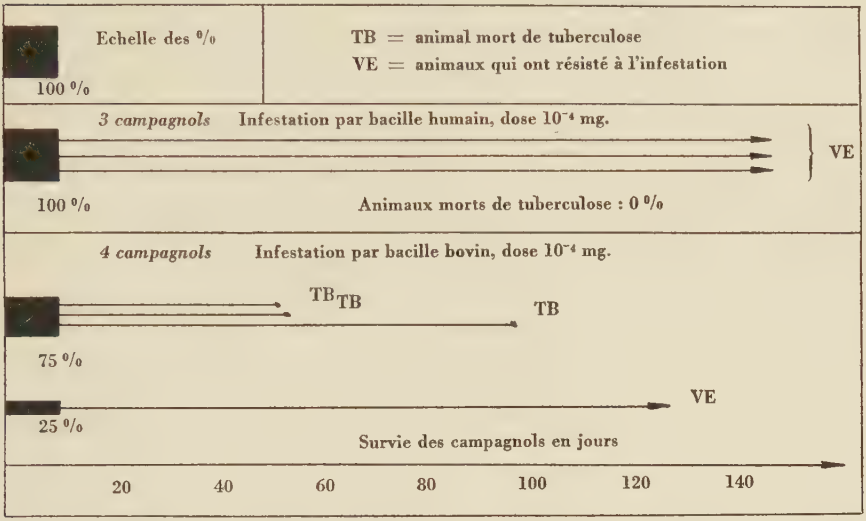
4 campagnols ont été infestés avec une telle dose. Parmi ceux-ci, 1 est décédé d'affection intercurrente et est exclu, 1 est mort de tuberculose après 68 jours d'expérience, les 2 autres vivaient encore 145 jours après l'inoculation.

---

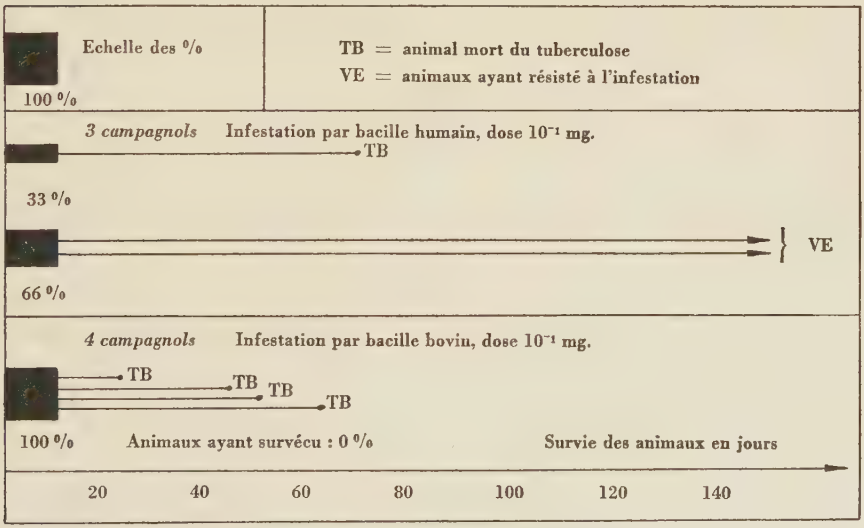
[1] Voir graphique N° 7.

[2] Voir graphique N° 8.

Donc, sur 3 campagnols, 2 ont survécu, soit 66 % et 1 est mort de tuberculose, soit 33 %.



Graphique N° 8 : Sensibilité comparée du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain et bovin. Dose infestante : 10^{-4} mg.



Graphique N° 9 : Sensibilité comparée du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain et bovin. Dose infestante : 10^{-1} mg.

Infestation par du bacille de type bovin.

Parmi les campagnols infestés à la dose de 10^{-1} mg., sur 4, tous sont morts de tuberculose avant le 125^{me} jour d'expérience (à savoir, le 22^{me}, le 43^{me}, le 49^{me} et le 61^{me} jours). Donc, aucun campagnol n'a survécu, soit 0 %, tous sont morts très tôt de tuberculose généralisée, soit 100 %.

Conclusion [1]

Différence de sensibilité du campagnol roussâtre aux types humain et bovin à nouveau indéniable.

E) INFLUENCE DE LA DOSE INFESTANTE UTILISÉE SUR LA SENSIBILITÉ DU CAMPAGNOL AUX DEUX TYPES BACILLAIRES ÉTUDIÉS

Pour terminer l'étude formelle de nos résultats, il nous reste à examiner les variations de la sensibilité du campagnol roussâtre relatives aux doses infestantes employées, 1° dans le cadre de nos essais avec du bacille tuberculeux de type bovin, 2° dans celui de nos essais avec du bacille de type humain.

Influence de la dose infestante sur la sensibilité du campagnol au bacille de type bovin

Nous commençons ici par le type bovin, parce que les résultats obtenus avec celui-ci sont plus démonstratifs que ceux obtenus avec le bacille de type humain.

En tout, 12 campagnols ont été inoculés avec du bacille de type bovin : 4 avec une dose de 10^{-1} mg., 4 avec une dose de 10^{-4} mg., et 4 avec une dose de 10^{-6} mg.

A la dose de 10^{-1} mg. :

Les 4 campagnols sont morts après inoculation, de tuberculose généralisée. Par conséquent, ils peuvent tous être pris en considération. Leurs survies ont été, dans l'ordre de durée, de 22, 43, 49 et 61 jours, ce qui donne comme moyenne pour la dose en question : 44 jours.

A la dose de 10^{-4} mg. :

3 campagnols sont morts après inoculation, de tuberculose généralisée, le 4^{me} a survécu.

Ce dernier étant seul parmi les animaux inoculés avec du bacille de type bovin à survivre après 125 jours d'expérience, il nous semble logique d'émettre quelque doute quant à la vraisemblance de l'exception qu'il crée. En effet, sa survie dépasse trop nettement celle des autres campagnols, en particulier celle des animaux inoculés avec des doses bacillaires plus faibles, pour que nous puissions admettre sans autre, une résistance particulière de cet unique

---

[1] Voir graphique N° 9.

sujet au bacille tuberculeux de type bovin. Une erreur de technique, de manipulation, nous paraît expliquer de façon beaucoup plus satisfaisante, cet écart de résultat isolé, ce qui nous conduit à exclure, pour les besoins des présentes considérations, cet animal du lot de ceux infestés par du bacille de type bovin.

Jusqu'ici, nous n'avions pas dans l'appréciation de nos résultats, éliminé l'animal en question, parce que nous désirions, par soucis de rigueur scientifique, éviter l'arbitraire de cette exclusion, d'une part, et d'autre part, parce que la non-vraisemblance de l'exception qu'il créait, ne ressortait pas, dans la façon dont plus haut nous envisagions nos résultats, aussi clairement que sous l'aspect où nous les considérons maintenant.

Donc ici, à la dose de 10^{-4} mg., nous ne tiendrons compte que des 3 campagnols décédés de tuberculose dans les délais de l'expérience. Les survies de ces animaux ont été dans l'ordre de durée, de 52, 54 et 98 jours, soit en moyenne de 68 jours.

A la dose de 10^{-6} mg. :

Sur les 4 campagnols inoculés, 1 est mort d'affection intercurrente et est exclu sans autre, 3 sont morts de tuberculose généralisée, après inoculation. Survies dans l'ordre de durée : 77, 102 et 103 jours, soit en moyenne 94 jours.

Conclusion [1]

Nous mettons ici en évidence, dans l'infestation par le bacille tuberculeux de type bovin, une relation de dépendance nette entre la dose microbienne inoculée et la sensibilité du campagnol roussâtre aux germes de ce type. La sensibilité de l'animal diminue quand la dose infestante s'amenuise, et tend de façon asymptotique à s'annuler aux doses très faibles.

Influence de la dose infestante utilisée sur la sensibilité du campagnol au bacille de type humain

Dans le groupe de nos essais avec le type humain, 12 campagnols ont été inoculés.

4 avec une dose de 1 mg., 4 avec une dose de 10^{-1} mg. et 4 avec une dose de 10^{-4} mg.

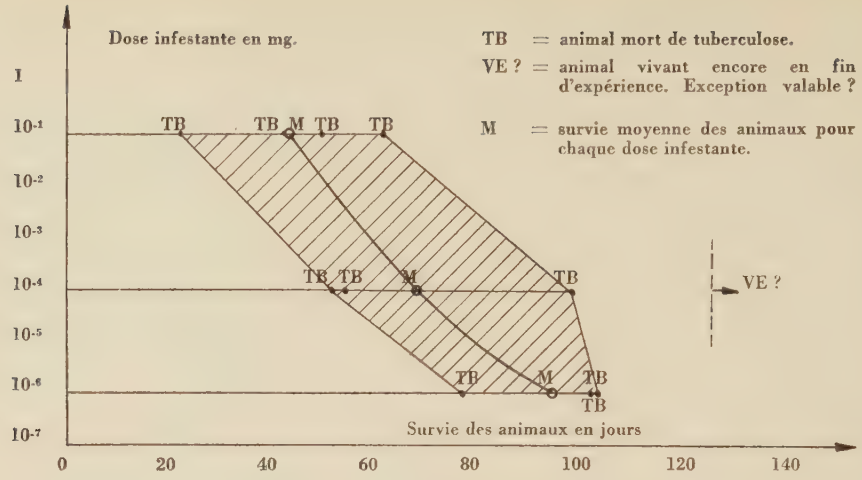
Sur les 12, 3 sont morts en cours d'expérience d'affections intercurrentes et sont exclus, 7 vivaient encore 145 jours après l'inoculation, 2 seulement sont morts de tuberculose.

La plupart des animaux ont donc résisté à l'infestation, et ont survécu au-delà du délai de 145 jours fixé pour l'observation des campagnols inoculés avec du bacille de type humain. Cette constatation ne permet pas de conclure à une absence totale de sensibilité du campagnol au bacille de type humain, mais elle autorise à affirmer que le rongeur présente naturellement une résistance remarquable au type bacillaire en question.

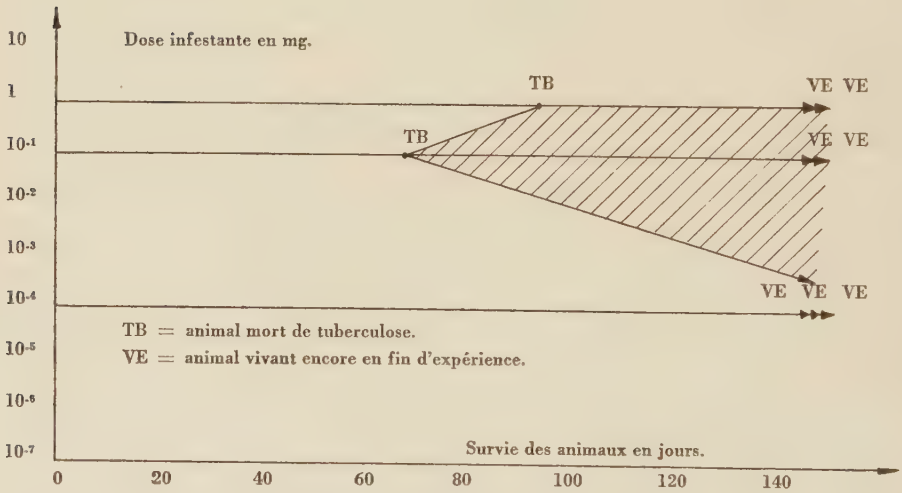
Les moyens d'investigation utilisés dans ce travail, s'appuyant sur l'étude des survies et l'autopsie des animaux morts spontanément, après infestation expérimentale, bien que nettement suffisants pour atteindre le but essentiel

---

1 Voir graphiques N^{os} 10 et 12.



Graphique N° 10 : Influence de la dose infestante utilisée sur la sensibilité du campagnol au bacille tuberculeux de type bovin. Courbe montrant la relation de dépendance entre la dose inoculée et la survie des animaux infestés.



Graphique N° 11 : Influence de la dose infestante utilisée sur la sensibilité du campagnol au bacille tuberculeux de type humain. Sauf exception pour les doses fortes, la durée de la survie des animaux infestés n'est plus dépendante de la quantité de bacilles inoculés, la maladie expérimentale évoluant dans la plupart des cas vers la guérison.

poursuivi (prouver la différence de sensibilité du campagnol aux types bacillaires humain et bovin), ne permettaient évidemment pas, dans nos essais avec le type humain, d'établir une relation de dépendance entre la dose inoculée et la susceptibilité du rongeur. En effet, pour que cela soit possible, il eût fallu que la majorité des animaux infestés meurent de tuberculose dans le délai d'observation fixé à 145 jours, c'est-à-dire que la maladie tuberculeuse artificiellement communiquée aux dits animaux, aboutisse fatalement à la mort par extension et généralisation dans ce délai, ce qui ne fut pas le cas.

Le délai de 145 jours était-il trop court ? Non certes pas. Car les animaux qui ont survécu au-delà de ce terme ont été sacrifiés par la suite, autopsiés et attentivement examinés, tant macroscopiquement que microscopiquement, et il s'est révélé que leur survie n'était plus fonction de l'évolution des lésions d'origine tuberculeuse qu'ils avaient ou qu'ils avaient pu avoir, cette évolution se faisant vers la guérison ou s'étant déjà terminée par la guérison.

Le fait qu'ils aient survécu au-delà de 145 jours nous indiquait bien, comme vu plus haut, une résistance certaine du campagnol roussâtre vis-à-vis du type bacillaire humain, mais ne nous renseignait pas sur les degrés particuliers de résistance qui pouvaient correspondre éventuellement aux différentes doses infestantes utilisées.

Toutefois, nous n'omettrons pas de signaler que tous les campagnols inoculés avec la dose bacillaire de 10^{-4} mg., dose minima employée dans nos essais avec le type humain, ont survécu et guéri, alors que parmi ceux inoculés avec des doses plus fortes, 10^{-1} mg. et 1 mg., 2 sont morts de tuberculose, à savoir respectivement 68 et 94 jours après infestation, ce qui laisse bien présumer qu'il existe, comme nous avons pu le démontrer pour le bacille de type bovin, une relation de dépendance entre la dose infestante et la sensibilité du campagnol, et qu'il serait possible de la mettre en évidence par d'autres méthodes d'investigation que celles utilisées dans notre travail.

Conclusion [1]

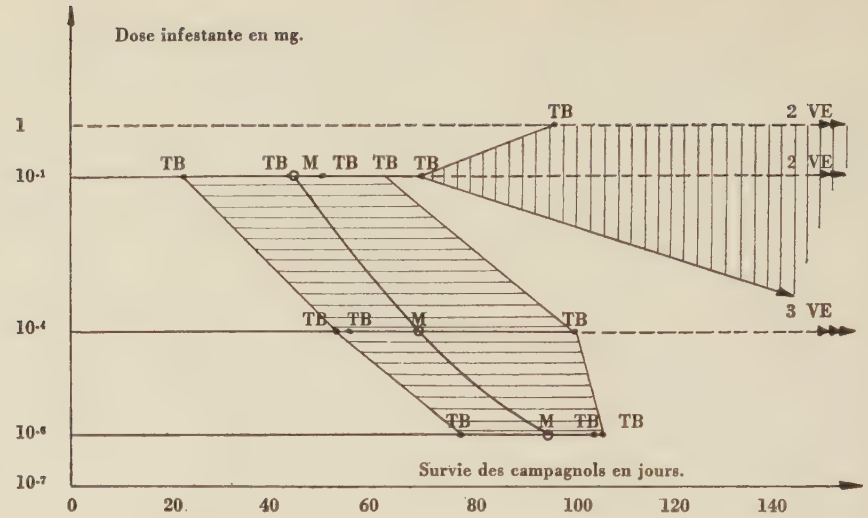
Dans l'infestation du campagnol roussâtre par le bacille tuberculeux de type humain : relation de dépendance probable entre la dose infestante utilisée et la sensibilité de l'animal au type microbien en question.

Graphique N° 12 : Montre :

- — La différence de sensibilité du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain et bovin.
- — L'influence de la dose infestante utilisée sur la sensibilité du rongeur à chacun des types bacillaires.
- — La possibilité d'utilisation du campagnol comme animal-test dans le diagnostic différentiel biologique des types tuberculeux.
- — La dose d'inoculation la plus favorable, dans l'application de cette méthode de diagnostic : 10^{-4} mg.
  Voie d'infestation expérimentale : intra-péritonéale.

---

[1] Voir graphiques N°s 11 et 12.



En trait continu : survie des animaux inoculés avec du bacille de type bovin. En pointillé : survie des animaux inoculés avec du bacille de type humain. TB = animal mort de tuberculose dans les délais d'expérience. M = survie moyenne des campagnols inoculés avec le bacille de type bovin, aux diverses doses d'essais. VE = animaux vivant encore après les délais d'expérience, et guérissant de leurs lésions tuberculeuses.

IV. PRÉCISIONS SUR LES LÉSIONS TUBERCULEUSES CHEZ LE CAMPAGNOL ROUSSATRE

Lésions dues au bacille de type humain

Anatomie pathologique

Rappelons tout d'abord, que sur 12 campagnols infestés avec du bacille de type humain, 5 seulement sont morts en cours d'expérience. Les autres ont été sacrifiés par la suite. (Voir plus loin.)

Parmi les 5 décédés en cours d'expérience, 3 présentaient des signes indiscutables d'affection intercurrente (gastro-entérite aiguë) et devaient leur mort plus vraisemblablement à cette maladie qu'à la tuberculose. En effet, à l'autopsie, ils ne présentaient aucune lésion tuberculeuse typique ou même suspecte a priori. Seules les cultures faites à partir des organes révélaient parfois la nature tuberculeuse d'une modification macroscopique pathologique, telle que : hypertrophie de la rate ou d'un ganglion. Les frottis directs faits à partir de ces mêmes organes restant le plus souvent eux, négatifs.

Chez les animaux morts en cours d'expérience sans présenter aucun signe quelconque d'affection intercurrente, il y avait par contre à l'autopsie, des modifications macroscopiques d'emblée suspectes de tuberculose ; les frottis des principaux organes atteints (foie, rate, poumons, reins) étaient très positifs, de même que les cultures, il va de soi. En général, on constatait la

présence d'une splénomégalie assez importante, accompagnée d'une hypertrophie ganglionnaire, une hépatomégalie discrète et des foyers d'hépatisation rouge des poumons. Aucune caséification macroscopique, aucune caverne.

Histologie

Ne nous intéressent, ici, que les animaux morts de tuberculose. Ceux-ci présentaient du point de vue pulmonaire des foyers de broncho-pneumonie assimilables à des foyers banaux, mais riches en bacilles aar. Le foie montrait des petits infiltrats parsemés de cellules géantes isolées, qui ne pouvaient être interprétés comme tuberculeux que grâce aux frottis et cultures. Dans les autres organes : foyers inflammatoires d'aspect banal. (Frottis également positifs.)

Lésions dues au bacille de type bovin

Anatomie pathologique

Sur les 12 campagnols inoculés avec du bacille de type bovin, un seul est mort d'affection intercurrente. Nous ne tiendrons aucun compte des lésions constatées chez cet animal. Tous les autres sont morts de tuberculose pendant le temps de l'expérience, sauf un qui a survécu au-delà.

Les campagnols morts de leur infection bacillaire présentaient tous des lésions typiques atteignant les poumons, le foie, la rate, les ganglions lymphatiques et parfois les reins. Les poumons présentaient en général un aspect tigroïde ou alors des lésions nodulaires, caséeuses ; la rate était hypertrophiée, piquetée de micro-nodules blanc jaunâtre ; le foie était soit agrandi, soit atrophique, toujours jaunâtre, friable (aspect de stéatose) ; les reins paraissaient parfois intacts (frottis pourtant positifs), parfois ils étaient agrandis, pâles. Quant aux ganglions lymphatiques, ils étaient souvent caséifiés, toujours hypertrophiés.

Histologie

L'examen microscopique des lésions tuberculeuses provoquées chez le campagnol roussâtre par les bacilles de type bovin confirmait la présence de foyers caséeux spécifiques et de nodules histologiquement très voisins des lésions analogues et bien connues de l'homme. Nous nous dispenserons donc d'insister davantage ici.

En résumé

Les lésions provoquées par le bacille humain sont assez différentes de celles dues au bacille bovin.

Alors que le bacille bovin chez le campagnol roussâtre se comporte réellement en bacille tuberculeux, déterminant l'apparition de foyers inflammatoires, évoluant selon le schéma spécifique de la tuberculose vers la caséification, le bacille humain lui, se comporte plutôt comme un germe banal, faisant des foyers d'inflammation banale, « statiques », n'évoluant jamais vers la caséification et ne devenant dangereux pour l'animal porteur, que par leur nombre et leur extension. La différence de pouvoir pathogène des deux germes vis-à-vis du campagnol roussâtre est donc une fois de plus démontrée.

Elle est établie par la différence très grande dans l'infestation expérimentale, des doses microbiennes nécessaires pour provoquer la mort ; elle est établie aussi par la différence anatomo-histologique des lésions produites.

Le pouvoir pathogène des deux germes est non seulement quantitativement différent mais aussi qualitativement.

Le bacille bovin provoque irrévocablement la mort du campagnol par tuberculose typique généralisée, quelle que soit la dose infestante ; le bacille humain peut provoquer la mort du campagnol par tuberculose mais il s'agit alors d'une tuberculose atypique, dont les lésions sont des foyers d'inflammation banale, se multipliant non pas en fonction du pouvoir pathogène propre du germe (comme c'est le cas pour le bovin) mais bien en fonction du nombre de germes introduits dans l'organisme infesté (comme ce serait le cas pour tout autre germe banal, capable aussi de tuer en dose massive).

V. AUTOPSIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET HISTOLOGIE DES ANIMAUX DE CONTROLE

Comme nous l'avons exposé au début de la partie originale de notre travail, nous avons utilisé pour nos expériences sur le campagnol roussâtre, des souches bacillaires fraîchement isolées. Il est évident dans ces conditions qu'il fallait, pour obtenir des résultats valables, étudier ces souches de la façon la plus approfondie, tant au point de vue morphologique qu'au point de vue de leur virulence et de leur type.

Nous ne reviendrons pas ici sur la description de ces bacilles et les caractéristiques de leur pouvoir pathogène, dont nous avons fait état en temps voulu, mais nous soulignerons simplement l'importance que nous avons attachée à l'examen de nos animaux de contrôle lors de leur mort en cours d'expérience.

Ces animaux, en effet (cobayes, lapins, hamsters), pour qu'aucune contestation ne soit possible, ont été chaque fois autopsiés très attentivement. Pour chacun d'eux, il a été tenu compte de l'anatomie pathologique, de l'histologie, des frottis et des cultures à partir des organes atteints, pour décider de leur réelle tuberculisation.

Ainsi, la preuve de la virulence et du type de nos germes était faite de la façon la plus sérieuse, selon les méthodes courantes et sûres universellement admises.

En général, ces animaux présentaient de grosses lésions nodulaires et caséeuses, disséminées dans les poumons, le foie, la rate.

L'histologie, les frottis et les cultures confirmaient la nature tuberculeuse typique et classique de ces lésions.

VI. EXAMEN DES SOUCHES BACILLAIRES APRÈS PASSAGE DANS L'ORGANISME DES ANIMAUX D'EXPÉRIENCE EN PARTICULIER DES CAMPAGNOLS

Après la mort de nos animaux de laboratoire tuberculisés, en particulier après celle des campagnols, nous avons fait des frottis et des cultures à partir des organes atteints non seulement pour vérifier la nature tuberculeuse des

lésions, mais aussi parce qu'il nous intéressait de savoir ce qu'étaient devenus nos bacilles après passage dans l'organisme du campagnol roussâtre, hôte inhabituel et méconnu des tuberculoses humaine et bovine.

Nous avons pu constater alors qu'il n'y avait aucune modification appréciable, ni de la morphologie, ni des caractères de coloration, ni de la vitalité et du développement sur milieu artificiel.

Le temps d'apparition, le nombre et l'aspect des colonies sur milieu de Löwenstein, étaient les mêmes sensiblement qu'avant le passage par le campagnol roussâtre, l'aspect microscopique des bacilles n'ayant pas changé non plus. (Voir début de notre travail original.)

VII. SORT DES ANIMAUX QUI ONT SURVÉCU AU-DELA DES TEMPS D'OBSERVATION

Infestation par le bacille de type humain

Rappel :

Le 29.6.56, deux séries de 6 campagnols roussâtres, numérotés de 1 à 6 et de 7 à 12, étaient inoculés avec des doses variant de 10^{-4} mg. à 1 mg. de bacilles tuberculeux, type humain, provenant de deux souches différentes. Le 21.11.56, soit après un délai arbitraire d'observation de 145 jours, sur 12 campagnols, 7 vivaient encore.

Que sont-ils devenus ?

Le 12.12.56, ils vivaient toujours, en apparence parfaitement sains. Ils furent alors sacrifiés et examinés attentivement. Il s'agissait des campagnols N^{os} 2, 6, 7, 8, 9, 10 et 12.

A l'autopsie, ils présentaient peu de modifications organiques. Comme il serait fastidieux d'en faire le détail pour chaque animal, nous nous contenterons de signaler de façon générale que ces modifications a priori n'avaient rien à faire avec la tuberculose, et qu'elles intéressaient seulement le volume ou l'aspect général de certains organes, ne se retrouvant par ailleurs que chez un nombre restreint d'individus.

Plus particulièrement, chez deux campagnols, les Nos 6 et 8, nous avons constaté une hypertrophie modérée de la rate et chez deux autres, les Nos 7 et 10, un aspect pathologique des poumons, fait de petits foyers indéterminés, non noduleux, non caséeux.

A l'histologie, rien de très particulier, si ce n'était la nature bronchopneumonique atypique des foyers pulmonaires signalés et les petits infiltrats non spécifiques, avec cellules géantes isolées et quelques gros noyaux de régénération, découverts dans les foies des Nos 2, 6 et 10.

Quant aux frottis et cultures, ils étaient négatifs dans la plupart des cas pour tous les organes ; seuls les poumons et la rate du campagnol N° 2 d'une part, et la rate du campagnol N° 6 d'autre part, se révélant positifs à la culture.

Conclusion

Les 7 campagnols qui ont survécu à l'infestation par le bacille de type humain semblaient à l'autopsie, 166 jours après l'inoculation, guéris ou en bonne voie de totale guérison.

Cela est un fait remarquable, car parallèlement, les deux lapins et le hamster inoculés avec le même bacille, qui avaient survécu 166 jours aussi, se révélaient eux, après sacrifice et autopsie, atteints d'innombrables lésions tuberculeuses caséeuses typiques, en pleine évolution.

Infestation par du bacille de type bovin

Rappel :

Le 20.7.56, deux séries de six campagnols roussâtres, numérotés de 13 à 18 et de 19 à 24, étaient inoculés avec des doses variant de 10^{-6} à 10^{-1} mg. de bacilles tuberculeux, type bovin, provenant de deux souches différentes. Le 22.11.56, soit après un délai arbitraire d'observation de 125 jours, sur les 12 campagnols, un seul était encore en vie.

Qu'est-il devenu ?

Alors que les campagnols infestés par le bacille de type humain, survivant au-delà des délais d'observation, durent être sacrifiés par la suite, le seul campagnol inoculé avec du bacille bovin qui ne mourut pas pendant le temps de nos expériences, décéda tout de même spontanément 136 jours après l'infestation.

A l'autopsie, il présentait des signes indiscutables de tuberculose généralisée, en particulier de nombreux nodules caséeux dans les poumons.

L'histologie confirmait largement la nature tuberculeuse des lésions constatées macroscopiquement.

Les frottis étaient positifs pour les poumons, les reins, la rate et le foie, de même que les cultures, il va de soi.

Conclusion

Ainsi le seul campagnol qui semblait devoir démentir l'extrême sensibilité du rongeur au bacille tuberculeux de type bovin, était tout de même très sévèrement atteint et une tuberculose, irrévocablement progressive, évoluait fatalement en lui.

N. B. — Aucun animal de contrôle inoculé avec du bacille de type bovin n'avait survécu au-delà des délais d'observation.

CONCLUSION

Pour terminer notre travail, nous reviendrons ici aux publications de Jespersen, desquelles nous sommes parti (voir « Introduction ») et comparant nos résultats à ceux de l'auteur danois, nous tenterons d'établir les conséquences pratiques que comporte la parfaite concordance des dits résultats.

COMPARAISON DE NOS RÉSULTATS ET DE CEUX DE JESPERSEN [1]

L'issue de nos diverses séries d'essais nous impose comme première constatation que, pour le campagnol roussâtre, le bacille tuberculeux de type bovin a un pouvoir pathogène considérablement plus grand que le bacille de type humain, ce qui correspond parfaitement aux affirmations de Jespersen.

Mais mieux, le pouvoir pathogène des deux types bacillaires sur le campagnol roussâtre, non seulement est différent en intensité, mais encore en qualité. Nous voulons dire par là, que les types bacillaires en question, non seulement provoquent des lésions d'étendue et d'importance différentes, mais bien aussi des lésions de nature différente, comme nous l'avons déjà montré dans notre chapitre consacré à l'étude anatomopathologique des animaux morts en cours d'expérience, intitulé : « Précisions sur les lésions tuberculeuses chez le campagnol roussâtre », chapitre auquel nous renvoyons le lecteur.

Jespersen lui-même avait déjà signalé cet aspect du problème, et en raison de l'intérêt que cela suscite, nous consacrerons quelques lignes encore à ce sujet en fin de conclusion.

Mais pour l'instant, bornons-nous à comparer les résultats sur le plan statistique, sans autres considérations que celles relatives à l'action ultime des germes sur les campagnols, soit : la mort, sa fréquence et ses modalités, selon la dose et le type bacillaires inoculés, en d'autres termes, la durée des survies après inoculation, ce qui était dans nos recherches le mode d'investigation essentiel pour apprécier la sensibilité du rongeur aux divers bacilles.

Pour la clarté de cette comparaison, nous reprendrons nos constatations et celles de Jespersen séparément pour chacun des deux types bacillaires.

---

[1] Voir tableau N° 4.

Susceptibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin

Selon Jespersen, une dose de 10^{-1} mg. de bacilles du type bovin tue le campagnol en 3 semaines environ, soit 21 jours environ. Selon nos essais, les campagnols infestés dans les mêmes conditions, avec la même dose, meurent dans un délai de 22 à 61 jours après inoculation, ou mieux, après une survie d'environ 44 jours, si l'on calcule une moyenne sur l'ensemble des survies observées.

Selon Jespersen encore, les doses de 10^{-3} à 10^{-5} mg., du même type bacillaire, tuent les campagnols en 1 mois et demi à 2 mois et demi, soit 60 jours environ. Selon nous, une dose intermédiaire de 10^{-4} mg. tue le campagnol dans un délai de 52 à 98 jours, soit après une survie moyenne de 68 jours environ. Selon l'auteur danois toujours, les doses de 10^{-6} à 10^{-8} mg. tuent l'animal en 3 à 4 mois, soit 90 à 120 jours.

Dans nos essais, une dose de 10^{-6} mg. a tué les campagnols dans un délai de 77 à 103 jours, soit après une survie moyenne de 94 jours environ.

Les chiffres par lesquels nous exprimons nos propres résultats ont une valeur toute relative du fait du nombre restreint des animaux utilisés dans nos expériences. Nous tenions cependant à les donner sous cette forme exacte, malgré l'apparence d'une précision excessive, pour éviter l'arbitraire d'une interprétation et pour garder à notre confrontation toute sa valeur et toute son objectivité.

Cette confrontation d'ailleurs, établie comme nous le faisons, nous paraît présenter suffisamment d'intérêt en elle-même, pour que nous puissions nous dispenser d'interpréter et de généraliser nos seuls résultats.

La convergence des constatations de Jespersen et des nôtres est en outre assez frappante pour se passer de commentaires bien longs et cette concordance, sur laquelle nous insistons, est à elle seule un des buts essentiels de notre travail.

Nous n'omettrons pas toutefois de relever que nous nous écartons un peu de Jespersen dans le cas particulier des doses bacillaires massives du type bovin, doses de 10^{-1} mg., qui selon l'auteur danois seraient 2 fois plus rapidement létales qu'elles ne le furent dans nos expériences, mais étant donné la multiplicité des facteurs entrant en ligne de compte, nous pensons qu'il serait vain de vouloir expliquer cette divergence. Cette dernière peut être due à la souche bacillaire particulière utilisée, aux techniques appliquées, aux conditions de vie des animaux inoculés, etc.

Susceptibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain

Selon Jespersen, une dose de 10^{-1} à 10^{-3} mg. de bacilles du type humain ne détermine pas forcément chez le campagnol l'éclosion d'une tuberculose à évolution fatale. Les lésions provoquées peuvent être et sont souvent réversibles.

Selon nos expériences, la survie, ou mieux, la guérison des campagnols, après inoculation par du bacille de type humain, est non seulement possible et fréquente à la dose infestante de 10^{-1} mg., mais aussi à des doses plus fortes (1 mg., guérison dans 66 % des cas).

D'après Jespersen encore, avec des doses de 10^{-3} à 10^{-7} mg. tous les campagnols inoculés survivent et guérissent spontanément.

Dans nos essais avec le bacille de type humain, à la dose de 10^{-4} mg., nous n'avons pas enregistré parmi nos animaux d'expérience, de décès attribuable à la tuberculose.

Donc, en ce qui concerne la sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain, nous sommes à même de confirmer sans restriction aucune les affirmations publiées par Jespersen.

Les termes de « lésions réversibles » et de « guérison spontanée » utilisés dans les lignes qui précèdent, nous conduisent tout naturellement à reprendre

TABLEAU N° 4

Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type bovin.			
Résultats publiés par Jespersen		Résultats obtenus dans notre travail	
Dose infestante	Survie des animaux d'expérience	Dose infestante	Survie des animaux d'expérience
10^{-1} mg.	3 semaines, soit environ 21 jours	10^{-1} mg.	22 à 61 jours Moyenne des survies 44 jours
10^{-3} mg. 10^{-4} mg. 10^{-5} mg.	1 1/2 à 2 1/2 mois soit env. 60 jours	10^{-4} mg.	52 à 98 jours Moyenne des survies 68 jours
10^{-6} mg. 10^{-7} mg. 10^{-8} mg.	3 à 4 mois, soit 90 j. à 120 j.	10^{-6} mg.	77 à 103 jours Moyenne des survies 94 jours
Sensibilité du campagnol roussâtre au bacille tuberculeux de type humain.			
Résultats publiés par Jespersen		Résultats obtenus dans notre travail	
Dose infestante	Survie des animaux d'expérience	Dose infestante	Survie des animaux d'expérience
		1 mg.	Guérison 66 % des cas. Mort tubercul. 33 %
10^{-1} mg.	mort non obligatoire	10^{-1} mg.	Comme ci-dessus
10^{-3} à 10^{-7} mg.	Guérisons 100 %	10^{-4} mg.	Guérisons 100 %

une dernière fois la question de la nature du pouvoir pathogène des deux types bacillaires sur le campagnol roussâtre, nature différente dans son intensité, comme nous l'avons démontré tout au long de notre travail, mais aussi différente dans sa qualité, c'est-à-dire dans les caractères et le type même des lésions provoquées, comme nous l'avons établi déjà.

Si nous reprenons cette question ici, ce n'est pas pour la développer davantage, car ce n'est pas le but de notre travail, mais c'est simplement pour insister sur l'importance du fait, qui est nouveau dans les méthodes biologiques simples possibles de diagnostic différentiel entre les types humain et bovin du bacille tuberculeux.

C'est d'autre part aussi pour mettre une fois encore en parallèle nos constatations et celles de Jespersen.

Il s'agit à ce propos de considérations d'ordre anatomo-pathologique, et nos propres affirmations sur ce sujet ayant fait l'objet d'un chapitre spécial, nous n'y reviendrons pas non plus. Mais la similitude de nos résultats et de ceux de Jespersen étant assez évidente pour que le lecteur puisse en juger de lui-même, nous nous contenterons de citer l'auteur danois pour rendre possible la comparaison.

Jespersen dit (traduction libre) :

« Les bacilles bovins sont hautement pathogènes pour le campagnol roussâtre, à la fois par voie sous-cutanée et par inoculation intra-péritonéale. Comme chez les cobayes, très peu de bacilles ou même un seul produisent une tuberculose progressive...

L'infection bovine est caractérisée par une multiplication énorme des bacilles tuberculeux dans l'organisme du campagnol, et par le développement de processus caséeux dans les différents organes particulièrement dans les ganglions lymphatiques, le foie, la rate et les poumons...

Des frottis colorés de ces organes ressemblent à des cultures pures de bacilles tuberculeux. »

« Quant aux bacilles tuberculeux humains, inoculés à des doses faibles, habituellement, ils ne veulent pas se multiplier dans l'organisme du campagnol de façon particulièrement extensive.

Les changements macroscopiques sont très différents de ceux obtenus avec les bacilles tuberculeux bovins. Il ne se développe de nodules que dans les poumons, mais pas dans le foie ni dans la rate. Les ganglions lymphatiques sont modérément grossis, mais comme dans les nodules pulmonaires, il n'y a aucune caséification.

Les modifications macroscopiques dans les poumons et les ganglions lymphatiques et les processus histologiquement démontrables dans le foie et la rate sont le plus important à la fin du second mois. Après le deuxième mois d'évolution, la tuberculose commence à régresser, jusqu'à ce que finalement chaque trace d'inflammation tuberculeuse dans les organes ait disparu.

Avec de très grandes doses infestantes, les bacilles se multiplient de façon remarquable et l'infection commence à devenir progressive, se terminant par la mort. Mais cette évolution fatale n'est pas la règle, certains campagnols plus résistants pouvant encore survivre.

Il pourrait être souligné que même chez les campagnols où l'infection devient progressive et fatale, on n'a que les modifications macroscopiques signalées plus haut et jamais de nodules dans le foie ni dans la rate. »

CONSÉQUENCES

Il ressort des considérations qui précèdent, que toutes les constatations qui avaient attiré notre attention dans les publications de Jespersen, constatations relatives à la différence de sensibilité du campagnol roussâtre aux bacilles tuberculeux des types humain et bovin, sont justes et vérifiables, et que la suggestion qu'il émet, d'utiliser le rongeur en question comme animal-test dans le diagnostic différentiel des deux types bacillaires envisagés, est valable et digne d'un grand intérêt.

La dose d'inoculation proposée à cette fin par Jespersen, 10^{-3} à 10^{-5} mg., est certes la meilleure. Nous avons dans notre travail, pour confirmation, les résultats de nos essais avec la dose infestante de 10^{-4} mg., résultats montrant avec cette dose d'inoculation, pour le type bovin : mort obligatoire des campagnols en 2-3 mois environ, pour le type humain : guérison certaine de tous les animaux.

Mais toutefois, nous n'omettrons pas de faire quelques réserves quant aux possibilités d'utilisation en pratique courante du campagnol roussâtre. Car en dépit de ce que prétendait l'auteur danois, ce rongeur ne s'est pas révélé très facile à adapter à la captivité et à élever. A ce propos, nous renvoyons le lecteur au chapitre consacré, sous le titre : « Le campagnol roussâtre », au sujet particulier de l'adaptation à la captivité de cet animal.

Cependant d'autres méthodes d'élevage des campagnols que celles utilisées dans nos travaux pourraient peut-être donner de meilleurs résultats, et ainsi la nouvelle méthode de diagnostic différentiel biologique des types humain et bovin du bacille tuberculeux proposée, deviendrait une méthode idéale, efficace, sûre, relativement rapide et peu onéreuse.

BIBLIOGRAPHIE

1) A. Calmette :

L'infection tuberculeuse et la tuberculose, 4me édition, revue par A. Boquet et L. Nègre. Masson, édit. 1936.
J. Dumas et les chefs de l'Institut Pasteur :
Bactériologie médicale. Les Editions Flammarion.

2) R. Hainard :

Les mammifères sauvages d'Europe. Vol. II. (Pinnipèdes, rongeurs, ongulés, cétacés.) Collection : Les Beautés de la Nature. Delachaux & Niestlé, édit. 1949.

3) P. Hauduroy :

Derniers aspects du monde des mycobactéries. Masson & Cie. 1955.
P. Hauduroy : Microbiologie générale et technique microbiologique. Masson & Roth. 1955.

4) P. Hauduroy :

Bacilles tuberculeux et paratuberculeux. Masson, édit. 1950.

5) P. Hauduroy et W. Rosset :

Sensibilité comparée du hamster et du cobaye aux bacilles tuberculeux humain et bovin. C.R. Soc. Biol. 1949. 43. 790.
Bulletin de l'Institut Pasteur, 1950-1957.

Andr. Jespersen :

Immunity to tuberculosis in Red Mice (Clethrionomys G. Glareolus Schreb.) Acta pathologica. Vol. 34. 1954.

Andr. Jespersen :

Antituberculous immunity induced in Red Mice (Clethrionomys G. Glareolus Schreb.) by vaccination with living BCG. (Influence of vaccination dose on the level of immunity.) Acta pathologica et microbiologica Scandinavica. Vol. 35. 1954.

Andr. Jespersen :

Use of Red Mice (Clethrionomys G. Glareolus Schreb.) for estimation of the ability of vaccines to immunize against tuberculosis. Acta pathologica. Vol. 34. 1954.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION (Les travaux de Jespersen) 9
ÉTUDE PRÉLIMINAIRE 11
I. GÉNÉRALITÉS SUR LES MYCOBACTÉRIES 11
II. MYCOBACTÉRIES PATHOGÈNES POUR L'HOMME 11
III. LE BACILLE TUBERCULEUX 11
A) Etude d'ensemble 11
B) Les divers types de bacilles tuberculeux 13
IV. LES BACILLES PARATUBERCULEUX 16
V. LES MYCOBACTÉRIES ANORMALES 17
VI. DIFFÉRENCIATION DES BACILLES ACIDO-ALCOOLO-RÉSISTANTS 18
A) Diagnostic différentiel entre paratuberculeux et tuberculeux 19
B) Diagnostic différentiel entre bacilles humain et bovin 21
VII. LE CAMPAGNOL ROUSSATRE 26
RECHERCHES ORIGINALES 29
I. DÉTERMINATION EXPÉRIMENTALE DE LA SENSIBILITÉ DU CAMPAGNOL ROUSSATRE AU BACILLE TUBERCULEUX DE TYPE HUMAIN 30
A) Première série d'inoculations 31
B) Deuxième série d'inoculations 32
C) Résultats des inoculations après 145 jours d'expérience 34
II. DÉTERMINATION EXPÉRIMENTALE DE LA SENSIBILITÉ DU CAMPAGNOL ROUSSATRE AU BACILLE TUBERCULEUX DE TYPE BOVIN 37
A) Première série d'inoculations 37
B) Deuxième série d'inoculations 39
C) Résultats des inoculations après 125 jours d'expérience 42
III. DISCUSSION DES RÉSULTATS SENSIBILITÉ COMPARÉE DU CAMPAGNOL AUX DEUX TYPES BACILLAIRES 45
A) Examen des résultats envisagés dans leur ensemble 45
B) Examens des résultats obtenus avec la souche de type humain N° 94 748 et avec la souche de type bovin N° 72 697 48

Pages

C) Examens des résultats obtenus avec la souche de type humain N° 94 046 et avec la souche de type bovin N° 81 168 50
D) Examen des résultats par rapport aux doses inoculées 52
E) Influence de la dose infestante utilisée sur la sensibilité du campagnol aux deux types bacillaires étudiés 54
IV. PRÉCISIONS SUR LES LÉSIONS TUBERCULEUSES CHEZ LE CAMPAGNOL ROUSSATRE 58
V. AUTOPSIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET HISTOLOGIE DES ANIMAUX DE CONTROLE 60
VI. EXAMEN DES SOUCHES BACILLAIRES APRÈS PASSAGE DANS L'ORGANISME DES ANIMAUX D'EXPÉRIENCE EN PARTICULIER DES CAMPAGNOLS 60
VII. SORT DES ANIMAUX QUI ONT SURVÉCU AU-DELA DES TEMPS D'OBSERVATION 61
CONCLUSION 63
COMPARAISON DE NOS RÉSULTATS ET DE CEUX DE JESPERSEN 63
CONSÉQUENCES 67
BIBLIOGRAPHIE 69
TABLE DES MATIÈRES 71

LA BONNE PRESSE - PORRENTRUY